

**ANALISA KEBUTUHAN ENERGI PEF (*Pulsed Electric Field*)  
SEBAGAI PERLAKUAN PENDAHULUAN SERTA  
PENGARUHNYA TERHADAP RENDEMEN DAN KUALITAS  
EKSTRAK TANIN BIJI PINANG (*Areca catechu* L.)**

**SKRIPSI**

**Oleh :  
AJI MAULANA AHSAN  
145100300111074**



**JURUSAN TEKNOLOGI INDUSTRI PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2018**

repository.ub.ac.id

**ANALISA KEBUTUHAN ENERGI PEF (*Pulsed Electric Field*)  
SEBAGAI PERLAKUAN PENDAHULUAN SERTA  
PENGARUHNYA TERHADAP RENDEMEN DAN KUALITAS  
EKSTRAK TANIN BIJI PINANG (*Areca catechu* L.)**

**SKRIPSI**

Oleh :  
**AJI MAULANA AHSAN**  
**145100300111074**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Teknik



**JURUSAN TEKNOLOGI INDUSTRI PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2018**

## LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Tugas Akhir : Analisa Kebutuhan Energi PEF (*Pulsed Electric Field*)  
Sebagai Perlakuan Pendahuluan Serta Pengaruhnya  
Terhadap Rendemen Dan Kualitas Ekstrak Tanin Biji  
Pinang (*Areca catechu* L.)

Nama Mahasiswa : Aji Maulana Ahsan  
NIM : 145100300111074  
Jurusan : Teknologi Industri Pertanian  
Fakultas : Teknologi Pertanian

Pembimbing Pertama,



Dr. Ir. Sukardi, MS.

NIP. 19600626 198601 1 001

Tanggal Persetujuan:

Pembimbing Kedua,



Nur Lailatul Rahmah, S.Si, M.Si

NIP. 19840522 201212 2 002

Tanggal Persetujuan:

## LEMBAR PENGESAHAN

Judul Tugas Akhir : Analisa Kebutuhan Energi PEF (*Pulsed Electric Field*)  
Sebagai Perlakuan Pendahuluan Serta Pengaruhnya  
Terhadap Rendemen Dan Kualitas Ekstrak Tanin Biji  
Pinang (*Areca catechu* L.)

Nama Mahasiswa : Aji Maulana Ahsan  
NIM : 145100300111074  
Jurusan : Teknologi Industri Pertanian  
Fakultas : Teknologi Pertanian

Pembimbing Pertama,



**Dr. Ir. Sukardi, MS.**

NIP. 19600626 198601 1 001

Pembimbing Kedua,



**Nur Lailatul Rahmah, S.Si, M.Si**

NIP. 19840522 201212 2 002

Penguji,



**Dr. Dodyk Pranowo, STP. M.Si**

NIP. 19790405 200312 1 005

Mengetahui,  
Ketua Jurusan,



**Dr. Sucipto, STP. MP.**

NIP. 19730602 199903 1 001

## RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di desa Cileungsi, Kabupaten Bogor pada tanggal 16 Mei 1996. Penulis dilahirkan dari pasangan ayah bernama Achsan Bisri dan ibu bernama Ida Farida Iryani. Penulis adalah anak kelima dari lima bersaudara, dengan kakak bernama Ali Alexander, Ade Martha Gautama, Dyah Puspita Arum, dan Adhiguna Prasetya.

Penulis menyelesaikan pendidikan sekolah dasar di SDN Cileungsi 02 pada tahun 2007. Kemudian melanjutkan ke sekolah menengah pertama di SMP PGRI Surya Kencana dan lulus pada tahun 2010. Setelah itu melanjutkan ke sekolah menengah atas di SMKN 1 Gunungputri dan lulus pada tahun 2013. Selanjutnya penulis bekerja selama kurang lebih satu tahun di PT. Van Aroma mulai dari tahun 2013 – 2014.

Selama menempuh pendidikan di jurusan Teknologi Industri Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya (TIP FTP UB), penulis aktif mengikuti organisasi dan beberapa kegiatan kepanitiaan. Organisasi yang pernah diikuti adalah UKM Seni sebagai anggota flotus (*Event Organizer*) dan Himpunan Mahasiswa Teknologi Industri Pertanian (HIMATITAN) sebagai anggota muda, staf, dan staf ahli bidang keilmuan dan keprofesian. Kegiatan kepanitiaan yang pernah diikuti penulis diantaranya Kunjungan Industri, *Welcome Party*, Flotus Fest, *Brawijaya Halal Food Festival*, *Himatitan Business Idea Challenge*, Pelatihan ISO dan HACCP. Selain itu penulis juga aktif menjadi asisten praktikum, diantaranya asisten praktikum pengetahuan bahan agroindustri dan asisten praktikum satuan operasi dan proses. Penulis juga mengikuti program Kuliah Kerja Nyata pada tahun 2017 di desa Semen, Blitar dalam rangka untuk meningkatkan kualitas produk dan pemasaran dari sari buah nanas (Banasari) sebagai salah satu komoditas di daerah tersebut.

*Puji dan syukur kehadiran Allah Subhanallahu wa Ta' ala  
Sholawat serta salam saya junjungkan kepada Nabi  
Muhammad Shallallahu' alaihi wa sallam  
Alhamdulillah hirobbil 'alamin.... berkat rahmat dan  
hidayahmu saya dapat menyelesaikan karya tulis ini,  
Karya kecil ini saya persembahkan untuk kedua orang tua saya,  
kakak dan kakak ipar saya, keluarga dan saudara saya serta  
sahabat-sahabat yang telah menemani, membantu, dan  
menyemangati saya selama ini,  
Semoga ilmu yang saya dapatkan bisa bermanfaat baik untuk  
saya dan banyak orang di sekitar.  
Aamiin...*

## PERNYATAAN KEASLIAN TUGAS AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Aji Maulana Ahsan  
 NIM : 145100300111074  
 Jurusan : Teknologi Industri Pertanian  
 Fakultas : Teknologi Pertanian  
 Judul Tugas Akhir : Analisa Kebutuhan Energi PEF (*Pulsed Electric Field*) Sebagai Perlakuan Pendahuluan Serta Pengaruhnya Terhadap Rendemen Dan Kualitas Ekstrak Tanin Biji Pinang (*Areca catechu* L.)

Menyatakan bahwa,  
 TA dengan judul di atas merupakan karya asli penulis. Apabila dikemudian hari terbukti pernyataan tersebut tidak benar, saya bersedia dituntut sesuai aturan hukum yang berlaku.

Malang, Juli 2018  
 Pembuat Pernyataan,

Aji Maulana Ahsan  
 NIM. 145100300111074

repository.ub.ac.id

**AJI MAULANA AHSAN. 145100300111074. ANALISA KEBUTUHAN ENERGI PEF (*Pulsed Electric Field*) SEBAGAI PERLAKUAN PENDAHULUAN SERTA PENGARUHNYA TERHADAP RENDEMEN DAN KUALITAS EKSTRAK TANIN BIJI PINANG (*Areca catechu* L.). TA. Pembimbing 1: Dr. Ir. Sukardi, MS. Pembimbing 2: Nur Lailatul Rahmah, S.Si, M.Si.**

---

## **RINGKASAN**

Pinang merupakan tanaman jenis palma yang dapat tumbuh secara alami dan tersebar luas di Indonesia. Salah satu bagian dari tanaman pinang yang sering dimanfaatkan ialah bagian biji. Biji pinang biasa digunakan dalam pengobatan berbagai penyakit. Di Indonesia, biji pinang biasa dikonsumsi dengan cara dikunyah dengan campuran daun sirih. Biji pinang tergolong sebagai sumber antioksidan karena memiliki berbagai metabolit sekunder seperti tanin, flavonoid, alkaloid, dan terpenoid. Kandungan antioksidan pada biji pinang dapat diperoleh melalui proses ekstraksi. Berdasarkan hasil penelitian terdahulu, rendemen yang dihasilkan dari ekstraksi biji pinang masih terbilang rendah yakni 0,982% dan 2,522% untuk biji pinang matang dan mentah. Sehingga perlu dilakukan perlakuan pendahuluan terhadap bahan agar rendemen meningkat. Perlakuan pendahuluan yang dapat dilakukan yaitu dengan menerapkan metode kejut listrik atau *Pulsed Electric Field* (PEF). Penelitian dilakukan untuk mengetahui pengaruh waktu paparan PEF, tegangan PEF, dan energi masukan spesifik PEF terhadap rendemen dan kualitas ekstrak tanin biji pinang.

Penelitian menggunakan rancangan percobaan dua faktor. Faktor pertama tegangan PEF dengan 3 level (3kV, 4 kV, dan 5kV). Faktor kedua waktu PEF dengan 3 level (3 menit, 5 menit, dan 7 menit). Percobaan dilakukan sebanyak 3 kali ulangan sehingga terdapat 27 satuan percobaan. Analisa meliputi rendemen, kadar air, aktivitas antioksidan, kualitatif tanin, kadar tanin, energi masukan spesifik PEF, SEM (*Scanning Electron Microscope*), dan FTIR (*Fourier Transform*



*Infra Red*). Pengolahan dan analisis data dilakukan menggunakan analisis regresi linier sederhana dan berganda dengan *software* SPSS 17. Perlakuan terbaik dipilih menggunakan metode *Multiple Attribute*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin lama waktu PEF dan semakin besar tegangan PEF maka semakin besar energi masukan spesifik PEF yang dihasilkan dengan range 1,92 – 12,44 kJ/cm<sup>3</sup>. Besar energi masukan spesifik PEF tidak berpengaruh nyata terhadap rendemen, kadar air, IC<sub>50</sub>, dan kadar tanin. Tegangan PEF (T) dan waktu PEF (W) baik masing-masing maupun secara bersama-sama menunjukkan tidak ada pengaruh signifikan terhadap rendemen, kadar air, dan kadar tanin. Disamping itu, waktu PEF (W) memberikan pengaruh signifikan terhadap nilai IC<sub>50</sub> sedangkan tegangan PEF (T) secara parsial dan simultan tidak. Perlakuan terbaik adalah perlakuan T1W2 (Tegangan PEF 3 kV dan waktu PEF 5 menit) dengan besar energi masukan spesifik 3,20 kJ/cm<sup>3</sup>, rendemen 6,38%, kadar air 4,52%, IC<sub>50</sub> 172,78 ppm, dan kadar tanin 571,34 mg GAE/g. Perlakuan terbaik dan kontrol sama-sama menunjukkan hasil positif pada uji kualitatif tanin. Komponen gugus fungsi penyusun pada perlakuan terbaik dan kontrol menunjukkan hasil yang sama dengan komponen gugus fungsi standar pada tanin terkondensasi berdasarkan hasil FTIR. Diketahui bahwa perlakuan terbaik lebih baik dari pada perlakuan kontrol pada semua karakterisasi. Dibanding kontrol, perlakuan terbaik memberikan peningkatan pada rendemen dan kadar tanin sebesar 34,88% dan 14,14% serta memberikan penurunan pada kadar air dan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 64,30% dan 5,58%.

**Kata Kunci:** Aktivitas Antioksidan, Biji Pinang, Ekstraksi, PEF, Tanin

**AJI MAULANA AHSAN. 145100300111074. ANALYSIS OF PEF (Pulsed Electric Field) ENERGY REQUIREMENT AS A PRETREATMENT AND THE EFFECT ON YIELD AND TANIN QUALITY OF PINANG SEED EXTRACT (*Areca catechu* L.).**  
**TA. Advisor 1: Dr. Ir. Sukardi, MS. Advisor 2: Nur Lailatul Rahmah, S.Si, M.Si.**

---

## **SUMMARY**

*Pinang is a type of palm plant that can naturally grow and spread widely in Indonesia. One of the pinang plant part that often used is the seed. The seed are commonly used for treatment of various diseases. In Indonesia, pinang seed usually consumed by chewing with the betel leaf. Pinang seed is generally classified as a source of antioxidant agents because it has various secondary metabolites such as tannins, flavonoids, alkaloids, and terpenoids that act as antioxidant. The content of antioxidants in pinang seed can be obtained through extraction process. Based on the results of previous research, the yield from the extraction of pinang seeds were still low, were about 0.982% and 2.522% for ripe and raw seeds. Therefore, it is necessary to do pretreatment of the material to increase the yield of the extract. Pretreatment that can be done is by applying electric shock method or Pulsed Electric Field. This study was conducted to determine the effect of PEF exposure time, PEF voltage, and PEF specific input energy on yield and tannin quality of pinang seed extract.*

*This study used two-factor experimental design as the research method. The first factor was the PEF voltage with 3 levels i.e. 3kV, 4kV, and 5kV. The second factor was PEF exposure time with 3 levels i.e. 3 minutes, 5 minutes, and 7 minutes. The experiment was conducted 3 replications, so there were 27 experimental units. Within this study carried out the analysis of yield, moisture content, antioxidant activity, qualitative tannins, tannin content, PEF specific input energy, SEM (Scanning Electron Microscope), and FTIR (Fourier Transform Infra Red). Data processing and analysis was done using simple and multiple linear regression analysis with SPSS*

17 software. The best treatment was chosen using Multiple Attribute method.

The results showed that the longer PEF exposure time and the greater PEF voltage will generate greater PEF specific input energy about 1.92 - 12.44 kJ/cm<sup>3</sup>. The PEF specific input energies did not significantly affect the yield, moisture content, IC<sub>50</sub>, and tannin content. The PEF voltage (T) and PEF exposure time (W) either individually or simultaneously showed no significant effect on yield, moisture content, and tannin content. Besides, the PEF time (W) variable gives a significant effect on the IC<sub>50</sub> value, while the PEF voltage (T) partially and simultaneously not. The best treatment was T1W2 treatment (PEF voltage of 3 kV and 5 minute PEF exposure time) with specific input energy of 3.20 kJ / cm<sup>3</sup>, yield of 6.38%, water content of 4.52%, IC<sub>50</sub> 172,78 ppm, and tannin content of 571.34 mg GAE / g. The best treatment and controls both showed positive results on the tannin qualitative test. The constituent functional group component of the best treatment and controls show the same result as the standard functional group component of the condensed tannins based on the FTIR results. It is known that the best treatment is better than the control treatment on all the characterizations. Compared to the control, the best treatment gives improvement on yield and tannin content around 34,88% and 14,14%, while decline on moisture content and IC<sub>50</sub> value around 64,30% and 5,58%.

**Keywords:** Antioxidant Activity, Extraction, PEF, Pinang seed, Tannin

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur atas kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan berkat rahmat dan anugerah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan Tugas Akhir yang berjudul “Analisa Kebutuhan Energi PEF (*Pulsed Electric Field*) sebagai Perlakuan Pendahuluan serta Pengaruhnya terhadap Rendemen dan Kualitas Ekstrak Tanin Biji Pinang (*Areca catechu* L.)” dengan baik. Tugas Akhir ini disusun guna memenuhi persyaratan untuk menyelesaikan pendidikan Strata 1 di jurusan Teknologi Industri Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya.

Penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang telah banyak memberi bantuan dan bimbingan dalam penyusunan Tugas Akhir ini, terutama kepada :

1. Kedua orang tua dan keluarga yang selalu memberikan dukungan moral dan materil serta doa sehingga penulis termotivasi untuk lebih semangat dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini.
2. Dr. Ir. Sukardi, MS selaku dosen pembimbing 1 yang telah memberikan motivasi, ilmu pengetahuan, serta bimbingan dan arahan dengan sabar sehingga penulis mampu menyelesaikan Tugas Akhir ini.
3. Nur Lailatul Rahmah, S.Si, M.Si selaku dosen pembimbing 2 sekaligus pimpinan proyek yang tidak hanya mendanai proses penelitian, namun juga memberikan motivasi, ilmu pengetahuan, serta bimbingan dan arahan dengan sabar sehingga penulis mampu menyelesaikan Tugas Akhir ini.
4. Dr. Dodyk Pranowo, STP. M.Si selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang berguna dalam upaya perbaikan Tugas Akhir ini.
5. Seluruh staf dan karyawan jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya.
6. Amalina, Pinang Mania, Pupuk Bawang, Cingor Fans Club, Tim Pala, Desa Micin, Pejuang TAK, Penghuni Rumah Iqbal, dan teman-teman semua yang telah membantu dan memberikan semangat.

repository.ub.ac.id

Penulis menyadari dalam Tugas Akhir ini masih memiliki banyak kekurangan. Oleh sebab itu penulis mengharapkan kritik dan saran dari berbagai pihak. Demikian Tugas Akhir ini penulis buat, semoga dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Malang, Juli 2018  
Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>LEMBAR PERSETUJUAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>RIWAYAT HIDUP .....</b>	<b>iv</b>
<b>LEMBAR PERUNTUKAN .....</b>	<b>v</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN TUGAS AKHIR .....</b>	<b>vi</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>vii</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>ix</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xvii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xviii</b>
 <b>BAB I. PENDAHULUAN .....</b>	 <b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
 <b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	 <b>7</b>
2.1 Pinang .....	7
2.2 Tanin .....	12
2.3 Antioksidan .....	16
2.4 <i>Pulsed Electric Field</i> (PEF) .....	18
2.5 Konsumsi Energi Selama Perlakuan PEF( <i>Pulsed Electric Field</i> ) .....	20
2.6 Ekstraksi .....	22
2.7 Penelitian Terdahulu .....	25
2.8 Hipotesis .....	29
 <b>BAB III. METODE PENELITIAN .....</b>	 <b>31</b>
3.1 Tempat dan Waktu Pelaksanaan .....	31
3.2 Alat dan Bahan .....	31
3.2.1 Alat .....	31
3.2.2 Bahan .....	31

3.3 Batasan Masalah .....	31
3.4 Tahapan Penelitian .....	32
3.5 Rancangan Penelitian.....	32
3.6 Pelaksanaan Penelitian .....	34
3.7 Analisa Fisik .....	35
3.7.1 Analisa Rendemen .....	35
3.7.2 Analisa Kadar Air .....	37
3.7.3 Analisa Aktivitas Antioksidan Metode DPPH .....	37
3.7.4 Analisa Kualitatif Tanin .....	38
3.7.5 Analisa Kadar Tanin .....	38
3.8 Perhitungan Energi Masukan Spesifik PEF .....	39
3.9 Pengolahan dan Analisis Data .....	39
3.10 Pemilihan Perlakuan Terbaik.....	40
3.11 Pengukuran SEM Perlakuan PEF dan Perlakuan Kontrol (tanpa PEF) .....	41
3.11.1 Pengukuran SEM Perlakuan PEF .....	41
3.11.2 Pengukuran SEM Perlakuan Kontrol.....	41
3.12 Analisa FTIR Perlakuan Terbaik dan Perlakuan Kontrol .	42
3.12.1 Analisa FTIR Perlakuan Terbaik .....	42
3.12.2 Analisa FTIR Perlakuan Kontrol .....	42
3.13 Perbandingan Perlakuan Terbaik dengan Perlakuan Kontrol .....	45
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>47</b>
4.1 Karakterisasi Ekstrak Tanin Biji Pinang.....	47
4.1.1 Rendemen .....	47
4.1.2 Kadar Air .....	52
4.1.3 Aktivitas Antioksidan ( $IC_{50}$ ) .....	57
4.1.4 Kadar Tanin .....	62
4.1.5 Kualitatif Tanin .....	68
4.2 Energi Masukan Spesifik PEF (W PEF) .....	70
4.3 Perlakuan Terbaik Penelitian.....	73
4.4 <i>Fourier Transform Infrared</i> .....	74
4.5 Perbandingan Perlakuan Terbaik dan Perlakuan Kontrol..	77
4.6 Perubahan Struktur Sel Biji Pinang Akibat Perlakuan PEF (SEM/ <i>Scanning Electron Microscopy</i> ) .....	78
<b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>85</b>
5.1 Kesimpulan .....	85

5.2 Saran .....	85
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>87</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>99</b>





## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2.1</b> Tanaman pinang .....	8
<b>Gambar 2.2</b> Biji pinang.....	11
<b>Gambar 2.3</b> Struktur tanin .....	14
<b>Gambar 2.4</b> Reduksi DPPH dari senyawa antioksidan .....	16
<b>Gambar 2.5</b> Perangkat alat PEF .....	19
<b>Gambar 3.1</b> Diagram alir tahapan penelitian .....	33
<b>Gambar 3.2</b> Diagram alir penelitian .....	36
<b>Gambar 3.3</b> Diagram alir SEM.....	43
<b>Gambar 3.4</b> Diagram alir FTIR.....	44
<b>Gambar 4.1</b> Grafik rata-rata nilai rendemen ekstrak tanin biji pinang .....	51
<b>Gambar 4.2</b> Grafik rata-rata nilai kadar air ekstrak tanin biji pinang .....	55
<b>Gambar 4.3</b> Grafik rata-rata nilai $IC_{50}$ ekstrak tanin biji pinang .....	61
<b>Gambar 4.4</b> Grafik rata-rata nilai kadar tanin ekstrak tanin biji pinang .....	67
<b>Gambar 4.5</b> Hasil uji kualitatif tanin .....	69
<b>Gambar 4.6</b> Grafik besar energi masukan spesifik PEF .....	71
<b>Gambar 4.7</b> Mikroskopik biji pinang.....	79
<b>Gambar 4.8</b> Struktur sel biji pinang.....	79
<b>Gambar 4.9</b> Skema pengaruh PEF terhadap sel bahan .....	83

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran 1.</b>	Data rendemen ekstrak tanin biji pinang .....	100
<b>Lampiran 2</b>	Hasil analisis statistik rendemen ekstrak tanin biji pinang .....	101
<b>Lampiran 3</b>	Data kadar air ekstrak tanin biji pinang .....	103
<b>Lampiran 4</b>	Hasil analisis statistik kadar air ekstrak tanin biji pinang .....	104
<b>Lampiran 5</b>	Data IC <sub>50</sub> ekstrak tanin biji pinang .....	106
<b>Lampiran 6</b>	Hasil analisis statistik IC <sub>50</sub> ekstrak tanin biji pinang .....	107
<b>Lampiran 7</b>	Data kadar tanin ekstrak tanin biji pinang .....	109
<b>Lampiran 8</b>	Hasil analisis statistik kadar tanin ekstrak tanin biji pinang .....	110
<b>Lampiran 9</b>	Hasil uji kualitatif tanin ekstrak biji pinang .....	112
<b>Lampiran 10</b>	Perhitungan energi masukan spesifik PEF .....	114
<b>Lampiran 11</b>	Hasil analisis statistik hubungan energi Masukan spesifik PEF dengan karakterisasi Ekstrak tanin biji pinang .....	116
<b>Lampiran 12</b>	Perhitungan perlakuan terbaik ekstrak tanin biji pinang dengan metode <i>Multiple Atribute</i> ...	118
<b>Lampiran 13</b>	Spektrum FTIR ( <i>Fourier Transform Infrared</i> )..	125
<b>Lampiran 14</b>	Hasil pengujian perlakuan kontrol .....	128
<b>Lampiran 15</b>	Hasil pengujian SEM serbuk biji pinang .....	130
<b>Lampiran 16</b>	Perhitungan analisa karakterisasi (T1W1) .....	132
<b>Lampiran 17</b>	Perhitungan standar deviasi (T1W1) .....	136
<b>Lampiran 18</b>	Dokumentasi penelitian .....	137

## BAB I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Pinang (*Areca catechu* L.) merupakan tanaman jenis palma yang dapat tumbuh secara alami dan tersebar secara luas di Indonesia (Ferry, 1992 dalam Yenrina *et al.*, 2014). Luas areal tanaman pinang di Indonesia pada tahun 2011 ditaksir mencapai 147.890 ha dengan produktivitas rata-rata 743 kg/ha (Balai Penelitian Tanaman Palma, 2012). Menurut data BPS (Badan Pusat Statistik), produksi tanaman pinang di Indonesia pada tahun 2012-2015 mengalami peningkatan sebesar 12,14% dari 42 ribu ton menjadi 47,1 ribu ton. Hal tersebut mengindikasikan bahwa tanaman pinang memiliki potensi yang besar sebagai bahan baku industri dan komoditas ekspor.

Salah satu bagian dari tanaman pinang yang sering dimanfaatkan ialah bagian biji. Biji pinang dikenal sebagai *betel nut* dan telah dimanfaatkan kurang lebih 10% dari populasi penduduk negara tropis di dunia (Hannan *et al.*, 2012). Biji pinang dimanfaatkan karena memiliki kemampuan pengobatan seperti efek antiracun, antidepresan, antibakteri, antiinflamasi, antialergi, antihipertensi, dan lain-lain (Jaiswal *et al.*, 2011; Rashid *et al.*, 2015). Salah satu pemanfaatan biji pinang yang sedang banyak dipelajari ialah sebagai sumber antioksidan. Biji pinang mengandung senyawa-senyawa seperti alkaloid, tanin, flavonoid, triterpen, steroid, asam lemak, dan komponen lain (Peng *et al.*, 2015).

Kandungan antioksidan pada biji pinang dapat diperoleh melalui proses ekstraksi. Pada penelitian Hamsar *et al.* (2011), proses ekstraksi biji pinang matang dan mentah dengan pelarut air menghasilkan rendemen sebesar 0,982% dan 2,522%. Berdasarkan hasil tersebut, diketahui bahwa rendemen yang dihasilkan masih terbilang rendah. Oleh karena itu, perlu adanya perlakuan pendahuluan terhadap bahan agar rendemen ekstrak meningkat. Menurut Donsi *et al.* (2010), perlakuan yang dapat dilakukan didalam sel tumbuhan ialah dengan meningkatkan permeabilitas membran sel menggunakan kejutan listrik. Efek dari kejutan listrik tersebut dapat mempercepat perpindahan

massa dalam peningkatan ekstraksi senyawa dan menghasilkan konsumsi energi yang lebih rendah. Hal ini menunjukkan bahwa kejut listrik (*Pulsed Electric Field*) memiliki potensi untuk mengoptimalkan prosedur pengolahan ekstraksi serta mengurangi biaya energi.

PEF (*Pulsed Electric Field*) merupakan pemberian tegangan listrik pada bahan yang dimaksudkan untuk merusak dinding sel bahan tanpa merusak komponen bioaktif yang ada di dalam sel. PEF menerapkan medan listrik tinggi yang dikontakkan dengan bahan diantara dua elektroda dalam waktu singkat (Sukardi, 2016). Menurut Janositz dan Knorr (2010), perlakuan dengan PEF dapat meningkatkan produksi metabolit sekunder yang berhubungan dengan pengaturan pertahanan hidup sel akibat adanya medan listrik, akumulasi, dan tarik menarik partikel bermuatan pada membran sel yang tidak konduktif sehingga menyebabkan pengurangan ketebalan atau rusaknya membran sel. Menurut Siemar *et al.* (2012), rusak atau pecahnya membran akan mengakibatkan laju difusi produk keluar meningkat pada saat ekstraksi sehingga menghasilkan rendemen yang lebih tinggi. Penelitian Sukardi dkk. (2014), menunjukan bahwa penerapan *Pulsed Electric Field* pada minyak atsiri bunga mawar dapat meningkatkan rendemen sebesar 50%.

Rusak atau pecahnya membran sel bahan disebabkan karena adanya energi yang diberikan pada *pretreatment* menggunakan PEF. PEF merupakan salah satu alternatif teknologi menggunakan energi panas yang rendah yaitu antara 9-12 °C (Toepfl *et al.*, 2006). Pada prosesnya, PEF menggunakan tegangan listrik 220-240 volt dan daya 300 watt yang memungkinkan luaran tegangan dari alat PEF dapat meningkat sampai 10.000 volt, sehingga energi listrik juga dapat meningkat. Energi listrik pada *pretreatment* menggunakan PEF dapat dianalisa menggunakan perhitungan energi masukan spesifik PEF. Besarnya energi masukan spesifik PEF tergantung pada beberapa hal seperti jarak anoda-katoda, dimensi ruangan, tegangan listrik (kuat medan listrik), dan waktu perlakuan (Sukardi, 2016; Putri dkk., 2009).

Menurut Fu'aida dkk. (2016), penerapan tegangan tinggi memberikan pengaruh terhadap kerusakan fisik sel, dimana pulsa tegangan tinggi yang diterapkan mengakibatkan suatu medan elektrik yang menyebabkan suatu sel termodifikasi pada membran sel. Selain itu, penggunaan PEF dengan waktu paparan yang tepat dapat mempengaruhi perubahan struktur sel suatu bahan seperti rusaknya membran sitoplasma sel. Dengan tegangan tinggi dan waktu yang sesuai, memungkinkan keluar masuknya senyawa makromolekul dari sel karena terciptanya lubang pada membran sel yang *irreversible* (Alberts, 1994; Sukardi dkk., 2014).

Perlakuan pendahuluan PEF sudah diaplikasikan sebelumnya pada ekstraksi biji pinang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rendemen ekstrak biji pinang meningkat sebesar 0,072% (Fu'aida dkk., 2016). Demikian pula dengan hasil penelitian Rahmah *et al.* (2017), yang menyatakan bahwa terjadi peningkatan rendemen ekstrak biji pinang sebesar 44,73%. Dalam hal ini, penerapan PEF mempengaruhi perubahan struktur sel bahan yang akan menyebabkan pecahnya membran sel sehingga rendemen yang dihasilkan akan lebih tinggi. Besarnya kebutuhan energi pada PEF diikuti dengan pertambahan tegangan dan waktu kejut yang diberikan. Hal tersebut dinyatakan oleh Suhartatik (2012), dimana pada penelitian pasteurisasi sari buah jeruk menggunakan PEF membutuhkan energi masukan spesifik yang berkisar antara 2.646 – 166.729 J/cm<sup>3</sup> dengan perlakuan terbaik adalah pada perlakuan dengan kombinasi lama waktu kejut sebesar 90 detik dengan energi yang dibutuhkan sebesar 166.729 J/cm<sup>3</sup>. Berdasarkan hasil penelitian diatas, dengan demikian dapat dilakukan penelitian mengenai analisa kebutuhan energi PEF (*Pulsed Electric Field*) sebagai perlakuan pendahuluan serta pengaruhnya terhadap rendemen dan kualitas ekstrak tanin biji pinang (*Areca catechu* L.).

## 1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu:

1. Bagaimana pengaruh tegangan PEF dan waktu paparan PEF terhadap rendemen dan kualitas ekstrak tanin biji pinang?
2. Berapakah energi masukan spesifik PEF yang dibutuhkan pada perlakuan PEF sesuai dengan variasi tegangan PEF dan waktu paparan PEF yang diterapkan?
3. Bagaimana pengaruh energi masukan spesifik PEF terhadap rendemen dan kualitas ekstrak tanin biji pinang?
4. Berapakah tegangan PEF, waktu paparan PEF, dan energi masukan spesifik PEF terbaik dilihat dari rendemen dan kualitas ekstrak tanin biji pinang?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini ialah sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh tegangan PEF dan waktu paparan PEF terhadap rendemen dan kualitas ekstrak tanin biji pinang yang diperoleh.
2. Mengetahui energi masukan spesifik PEF yang dibutuhkan pada variasi tegangan PEF dan waktu paparan PEF.
3. Mengetahui pengaruh energi masukan spesifik PEF terhadap rendemen dan kualitas ekstrak tanin biji pinang yang diperoleh.
4. Mengetahui tegangan PEF, waktu paparan PEF, dan energi masukan spesifik PEF terbaik dilihat dari rendemen dan kualitas ekstrak tanin biji pinang yang diperoleh.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini yaitu:

1. Memberikan informasi pengaplikasian perlakuan pendahuluan PEF beserta pengaruhnya terhadap hasil ekstraksi tanin biji pinang.

2. Memberikan informasi mengenai energi masukan spesifik PEF yang dibutuhkan untuk menghasilkan rendemen dan kualitas ekstrak tanin biji pinang terbaik.
3. Menambah pengetahuan tentang peningkatan hasil ekstraksi tanin biji pinang yang diberi perlakuan pendahuluan PEF dengan kombinasi tegangan PEF dan waktu paparan PEF yang tepat.
4. Memberikan pengetahuan untuk masyarakat, terutama industri farmasi dan kesehatan dalam meningkatkan nilai ekonomis ekstrak tanin biji pinang sebagai antioksidan.





## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Pinang

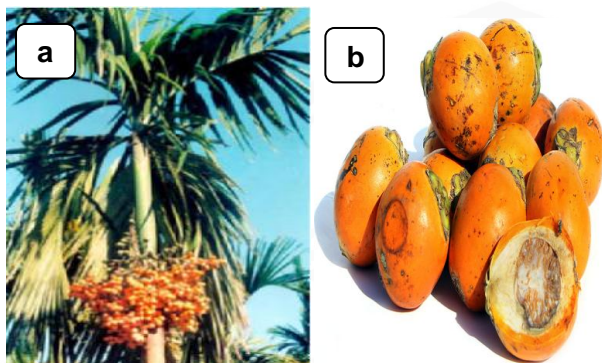
Pinang (*Areca catechu* L.) merupakan tanaman jenis palma yang dapat tumbuh secara alami dan tersebar secara luas di berbagai daerah Indonesia, seperti Sumatera (Aceh, Sumatera Utara, dan Sumatera Barat), Kalimantan (Kalimantan Selatan dan Kalimantan Barat), Sulawesi (Sulawesi Utara dan Sulawesi Selatan), dan Nusa Tenggara (Nusa Tenggara Barat dan Nusa Tenggara Timur). Tanaman pinang umumnya dapat dibudidayakan dan ditanam di pekarangan, taman-taman, dan juga dapat tumbuh liar di tepi sungai dan tempat-tempat lain. Tanaman ini dapat tumbuh pada ketinggian 1-1.400 meter di atas permukaan laut (Yenrina *et al.*, 2014).

Tanaman pinang berbunga pada awal dan akhir musim hujan dan memiliki masa hidup 25-30 tahun. Tanaman ini dapat tumbuh mencapai tinggi 15-20 m dengan batang tegak lurus berdiameter 15-20 cm. Buah pinang berkecambah setelah 1,5 bulan dan 4 bulan kemudian mempunyai jambul daun-daun kecil yang belum terbuka. Pembentukan batang baru terjadi setelah 2 tahun dan berbuah pada umur 5-8 tahun tergantung keadaan tanah (Depkes RI, 1989 *dalam* Susanti dan Agung, 2014). Adapun klasifikasi ilmiah dari tanaman pinang menurut Syamsuhidayat and Hutapea (1991) adalah sebagai berikut:

<i>Kingdom</i>	: Plantae
<i>Division</i>	: Spermatophyta
<i>Sub Division</i>	: Angiospermae
<i>Class</i>	: Monocotyledonae
<i>Family</i>	: Arecaceae/Palmae
<i>Genus</i>	: <i>Areca</i>
<i>Species</i>	: <i>Areca catechu</i> L.

Ciri-ciri dari tanaman pinang antara lain: (a). Akar: berakar serabut, putih, dan kotor. (b). Batang: tegak lurus dengan tinggi 10-30 meter, berdiameter 15 cm, tidak bercabang dengan bekas daun yang lepas. (c). Daun: majemuk menyirip tumbuh

berkumpul di ujung batang membentuk roset batang. Pelepah daun berbentuk tabung, panjang 80 cm, dan tangkai daun pendek. Panjang helai daun 1-1,8 m, anak daun mempunyai panjang 85 cm, lebar 5 cm dengan ujung sobek dan bergigi. (d). Bunga: tongkol bunga dengan seludang panjang yang mudah rontok, keluar dari bawah roset daun, panjang sekitar 75 cm, dengan tangkai pendek bercabang rangkap. (f). Biji: monokotil, bentuknya seperti kerucut pendek dengan ujung membulat, pangkal agak datar dengan suatu lekukan dangkal, panjang 15-30 mm, permukaan luar berwarna kecoklatan hingga coklat kemerahan, sedikit berlekuk menyerupai jala dengan warna yang lebih muda. Pada bidang irisan biji tampak perisperm berwarna coklat tua dengan lipatan tidak beraturan (Dalimartha, 2009).



**Gambar 2.1** Tanaman pinang (a. pinang; b. buah pinang)  
(Sumber: Nair, 2010; Savitri, 2016)

Beberapa jenis pinang yang dikenal di Indonesia, di antaranya ialah sebagai berikut (Tim Penyusun Kamus PS, 2013):

a. Pinang Hutan (*Pinanga kuhlii* B1)

Pinang hutan merupakan tanaman hias daun, famili *Palmae*, berupa pohon; batang lurus, tumbuh merumpun, tinggi 5-6 m; daun majemuk, menyirip, pelepah bentuk selendang yang membungkus batang, anak daun lebar;

perbungaan malai pada tandan yang menggantung; bunga putih, tangkai merah; buah masak mula-mula merah kemudian menjadi hitam, bentuk lonjong; perbanyak dengan biji.

b. Pinang Biru (*Pinanga caesia* B1)

Pinang biru merupakan tanaman hias daun, famili *Palmae*, berupa pohon batang lurus, tumbuh merumpun, tinggi mencapai 6 m; daun majemuk bersirip dua, tangkai ungu kebiruan, perbungaan malai pada tandan yang menggantung, tangkai merah; buah masak hitam, biji tunggal; perbanyak dengan biji.

c. Pinang Irian (*Ptychosperma macarthurii*)

Pinang irian merupakan tanaman hias daun, famili *Palmae*, berupa pohon, asal irian; batang lurus, tumbuh merumpun, tinggi 4-5 m, daun majemuk, menyirip, anak daun berpasangan, ujung bergerigi, pelepah berupa seludang yang saling menutup di ujung batang; perbungaan malai pada tandan menggantung; bunga berpasangan, bunga betina diapit 2 bunga jantan; buahnya lonjong, biji tunggal, perbanyak dengan biji.

d. Pinang Jawa (*Pinanga javana* B1)

Pinang jawa merupakan tanaman hias daun, famili *Palmae*, berupa pohon, asal jawa; batang lurus, tumbuh merumpun, tinggi mencapai 10 m, daun tunggal, menyirip, berpelepah bentuk selendang dengan warna hijau; perbungaan malai pada tandan yang menggantung; bunga berpasangan, bentuk triad dengan satu bunga betina diapit dua bunga jantan. Mekar tidak bersamaan, didahului bunga betina, harum seperti bunga pinang, buah lonjong, hijau, berbiji satu, perbanyak dengan biji.

e. Pinang Kelapa (*Actinorhytis calapparia* B1)

Pinang kelapa merupakan tanaman hias daun, famili *Palmae*, berupa pohon bertajuk indah; batang lurus, tunggal, tinggi mencapai 15 m, daun menyirip, melengkung hampir berbentuk lingkaran, berpelepah seperti selendang; perbungaan malai pada tandan yg menggantung; buah bulat agak lonjong, besar, biji tunggal, perbanyak dengan biji.

f. Pinang Kera (*Iguanura macrostachya* Becc.)

Pinang kera merupakan tanaman hias daun, famili *Palmae*, berupa perdu; batang kecil, beruas tidak jelas, tumbuh merumpun, tinggi 0,5-1 m; daun majemuk, lebar, menyirip, bagian ujung anak daun terkadang saling berhubungan sehingga tampak seperti daun berlubang di bagian tengah; perbungaan panjang, tidak berlubang; bunga dan buah terletak menjurai pada sumbunya, perbanyak dengan tunas atau biji.

g. Pinang Merah (*Cyrtostachys lakka* Becc.)

Pinang merah merupakan tanaman hias daun, famili *Palmae*, berupa pohon, asal Kalimantan Barat; batang lurus, kecil, tumbuh merumpun, tinggi mencapai 6-14 m, daun majemuk, menyirip, agak melengkung, berpelelah merah menyala dengan bentuk selendang, anak daun agak kaku, perbanyak dengan biji.

h. Pinang Monyet/Yaki (*Areca vestiaria*)

Pinang yaki merupakan tanaman hias daun, famili *Araceae*, berupa pohon, tumbuh ditempat teduh; batang lurus, tumbuh merumpun, tinggi mencapai 10 m, perakaran menggantung pada pangkal batang dengan panjang mencapai 1,5 m; daun majemuk, menyirip, hijau, berpelelah merah, perbungaan malai pada tandan menggantung yang tumbuh dibawah ketiak daun; buah masak, bulat lonjong, kecil, kulit merah, biji tunggal yang bagian luarnya berserabut; perbanyak dengan biji.

i. Pinang Sirih (*Areca catechu* L.)

Pinang sirih merupakan tanaman obat, famili *Araceae*, berupa pohon; batang lurus, agak licin, tinggi mencapai 10 m; daun majemuk, menyirip, melengkung, pelelah berbentuk selendang, anak daun lebar; perbungaan tandan dalam rangkain bentuk bulir, betina terletak dipangkal, jantan terletak diujung; buah masak berwarna kuning keputihan, terdapat dipangkal perbungaan; buah untuk menyirih, endosperma buah untuk bahan pernis, umbut batang untuk campuran ramuan obat.

j. Pinang Tutul (*Pinanga densiflora* B1)

Pinang tutul merupakan tanaman hias daun, famili *Palmae*, berupa perdu, suka tempat agak basah; batang lurus, kecil, merumpun, tinggi mencapai 4 m; daun majemuk, menyirip, anak daun berbercak hijau tua seperti majemuk yang sering dijumpai pada tanaman muda. Pelelepah bentuk selendang, tulang daun muda merah; perbungaan malai pada tandan menggantung, tangkai tandan kuning; buahnya merah jambu, biji tunggal; perbanyakkan dengan biji.

Biji pinang merupakan biji dari buah pinang yang banyak digunakan sebagai bahan dasar berbagai obat tradisional. Biji pinang biasa digunakan dalam pengobatan berbagai penyakit seperti dispepsia, konstipasi, beriberi, edema, diare, gangguan ginekologis, infeksi cacingan, masalah gigi/mulut, dan masalah stamina (Hannan *et al.*, 2012; Rashid *et al.*, 2015). Di Indonesia, biji pinang biasa dikonsumsi dengan cara dikunyah dan digunakan sebagai makanan dengan campuran daun sirih dalam upacara adat (Yenrina *et al.*, 2014). Biji pinang mengandung senyawa-senyawa seperti alkaloid, tanin, flavonoid, triterpen, steroid, asam lemak, dan komponen lain (Peng *et al.*, 2015). Biji pinang banyak dimanfaatkan sebagai obat karena memiliki kemampuan pengobatan seperti efek antiracun, antidepresan, antibakteri, antiinflamasi, antialergi, antihipertensi, dan lain-lain (Jaiswal *et al.*, 2011; Rashid *et al.*, 2015).



**Gambar 2.2** Biji pinang  
(Sumber: Rashid *et al.*, 2015)

Biji pinang secara umum tergolong sebagai sumber agen antioksidan karena memiliki berbagai metabolit sekunder seperti tanin, flavonoid, alkaloid, dan triterpen yang bersifat antioksidan. Antioksidan terdapat pada beberapa bagian tanaman pinang seperti akar, sekam, bunga, dan biji pinang. Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak biji pinang mengandung antioksidan dengan rendemen, jumlah konten fenolik, flavonoid, dan aktivitas antioksidan yang lebih baik dibanding ekstrak akar, sekam, dan bunga pinang (Zhang *et al.*, 2009; Hamsar *et al.*, 2011). Komposisi kimia dari biji pinang dapat dilihat pada **Tabel 2.1**

## 2.2 Tanin

Tanin adalah senyawa polifenol dari kelompok flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan kuat, antiperadangan, antikanker, adstringen, antidiare, dan antibakteri. Tanin dikenal juga sebagai komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut (Yuliarti, 2009; Desmiaty dkk., 2008). Tanin banyak ditemukan pada hampir semua bagian organ tanaman dan berfungsi sebagai penghambat terdegradasinya protein/nutrisi oleh enzim (Kondo *et al.*, 2004). Sebagai contoh, tanin banyak terdapat pada tumbuhan teh, anggur, buah delima, buah berries, buah pinang, kacang-kacangan, rempah, dan tanaman kayu (Ismarani, 2012).

**Tabel 2.1** Komposisi kimia biji pinang

Komposisi	Biji Mentah	Biji Matang
1. Kadar Air	69,4-74,1	38,9-56,7
2. Total Polisakarida	17,3-23,0	17,8-25,7
3. Protein kasar	6,7-9,4	6,2-7,5
4. Lemak	8,1-12,0	9,5-15,1
5. Serat Kasar	8,2-9,8	11,5-15,4
6. Polifenol	17,2-29,8	11,1-17,8
7. Arecolin	0,11-0,14	0,12-0,24
8. Abu	1,2-2,5	1,1-1,5

Sumber : (Jayalaksmi and Mathew, 1982)

Jumlah (%) berdasarkan berat kering (kecuali kadar air)



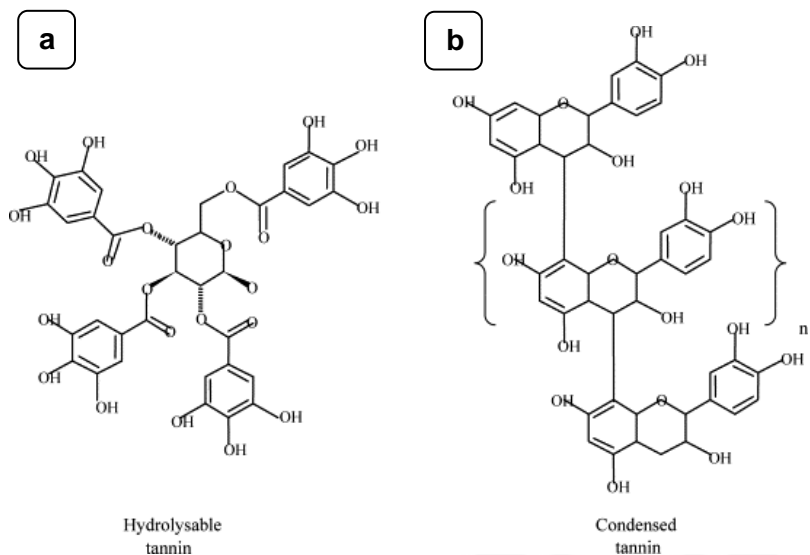
Tanin biasanya tampak sebagai massa butiran bahan berwarna kuning, merah, atau cokelat. Tanin dapat ditemukan dalam bagian yang berbeda dari tumbuhan, misalnya pada daun, periderm, jaringan pembuluh, buah yang belum masak, kulit, biji, dan kayu tumbuhan. Tanin terdapat dalam sel biasa atau dalam idioblas. Di dalam sel, tanin terletak dalam vakuola atau dalam bentuk tetes di sitoplasma dan sering kali masuk ke dalam dinding sel, misalnya dalam jaringan gabus. Tanin berperan sebagai pelindung tumbuhan untuk melawan dehidrasi, pembusukan, dan perusakan oleh hewan. Secara komersial, tanin digunakan khususnya dalam industri penyamakan kulit dan banyak dimanfaatkan sebagai bahan pengawet/perekat kayu, bahan aditif makanan, obat-obatan (diare, hemostatik, wasir, dll), inhibitor korosi, dan bahan pewarna dalam pembuatan tinta (Mulyani, 2006; Yellia, 2009; Ismarani, 2012; Nnaji, *et al.*, 2013).

Secara kimia, tanin merupakan senyawa fenol yang larut dalam air dan memiliki berat molekul antara 500 dan 3000 Da. Tanin diklasifikasikan menjadi dua kelompok, yakni tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin terhidrolisis merupakan hidroksil dari karbohidrat atau *phenolic esterified* seperti asam galat atau asam ellagat yang banyak ditemukan dalam daun dan kulit berbagai spesies tanaman. Tanin terkondensasi dikenal sebagai *proanthocyanidins* yang merupakan polimer yang terdiri dari 2-50 lebih unit flavonoid yang bergabung dengan ikatan karbon-karbon yang tidak rentan terhadap hidrolisis (Ismarani, 2012). Struktur tanin terhidrolisis dan terkondensasi dapat dilihat pada **Gambar 2.3**.

Beberapa sifat kimia tanin diantaranya ialah sebagai berikut (Ismarani, 2012):

- a. Tanin memiliki sifat umum, yaitu memiliki gugus phenol dan bersifat koloid, sehingga jika terlarut dalam air bersifat koloid dan asam lemah.
- b. Umumnya tanin dapat larut dalam air. Kelarutannya besar dan akan meningkat apabila dilarutkan dalam air panas. Begitu juga tanin akan larut dalam pelarut organik seperti metanol, etanol, aseton, dan pelarut organik lainnya.





**Gambar 2.3** Struktur tanin (a. terhidrolisis; b. terkondensasi)  
Sumber: (Dennis *et al.*, 2005)

- Tanin akan terurai menjadi *pyrogallol*, *pyrocatechol*, dan *phloroglucinol* bila dipanaskan sampai suhu  $210^{\circ}\text{F}$  -  $215^{\circ}\text{F}$  ( $98,89^{\circ}\text{C}$  -  $101,67^{\circ}\text{C}$ ).
- Tanin dapat dihidrolisa oleh asam, basa, dan enzim.
- Ikatan kimia yang terjadi antara tanin-protein atau polimer-polimer lainnya terdiri dari ikatan hidrogen, ikatan ionik, dan ikatan kovalen.

Beberapa sifat fisik tanin diantaranya ialah sebagai berikut (Ismarani, 2012):

- Umumnya tanin mempunyai berat molekul tinggi dan cenderung mudah dioksidasi menjadi suatu polimer, sebagian besar tanin bentuknya *amorf* dan tidak mempunyai titik leleh.
- Tanin berwarna putih kekuning-kuningan sampai coklat terang, tergantung dari sumber tanin tersebut.
- Tanin berbentuk serbuk atau berlapis-lapis seperti kulit kerang, berbau khas, dan mempunyai rasa sepat (*astringent*).

- d. Warna tanin akan menjadi gelap apabila terkena cahaya langsung atau dibiarkan di udara terbuka.
- e. Tanin mempunyai sifat atau daya bakterostatik, fungistatik, dan merupakan racun.

### 2.3 Antioksidan

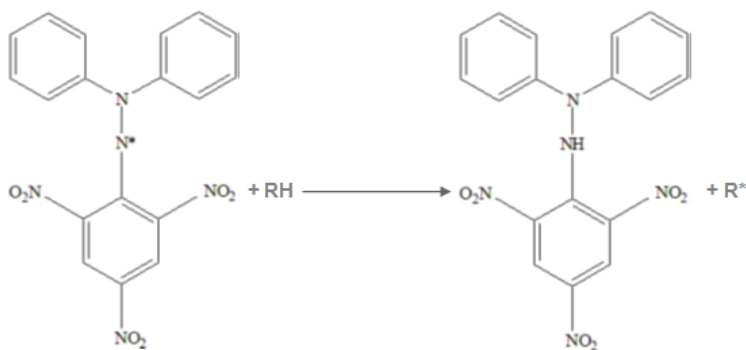
Radikal bebas adalah suatu bentuk molekul yang tidak stabil didalam tubuh dan sangat reaktif karena mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Untuk mencapai kestabilan atom atau molekul, radikal bebas akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron yang disebut oksidan, yaitu suatu senyawa yang dapat menerima elektron. Reaksi ini akan berlangsung terus-menerus dalam tubuh dan bila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya. Oleh karena itu, tubuh memerlukan suatu substansi penting seperti antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas sehingga tidak dapat menginduksi suatu penyakit (Kikuzaki *et al.*, 2002).

Antioksidan dalam pengertian kimia, merupakan senyawa pemberi elektron. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa terhambat. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas. Dengan kata lain, radikal bebas akan bereaksi dengan donor dari suatu senyawa antioksidan membentuk sebuah molekul yang tidak berbahaya (Winarsi, 2007; Yongsun, 2005).

Berdasarkan sumber perolehannya ada 2 macam antioksidan, yaitu antioksidan alami dan antioksidan buatan (sintetik). Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Adanya kekhawatiran akan kemungkinan efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan.

Beberapa antioksidan yang lazim digunakan diantaranya ialah asam askorbat, askorbil palmitat, tokoferol, asam sitrat, BHA, BHT, ethoxyquin, propil galat, dan t-buthylhydro-quinone (Senja *et al.*, 2014; Arisman, 2009).

Salah satu metode yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan adalah metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH). Metode uji aktivitas antioksidan dengan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dipilih karena metode ini adalah metode sederhana, mudah, cepat, peka, serta hanya memerlukan sedikit sampel untuk evaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam sehingga digunakan secara luas untuk menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor elektron (Molyneux, 2004). Pada prinsipnya, interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau donor hidrogen pada DPPH, akan menetralkan radikal bebas dari DPPH dan membentuk DPPH tereduksi (Rohman *et al.*, 2010). Struktur DPPH dan DPPH tereduksi hasil reaksi dengan antioksidan dapat dilihat pada **Gambar 2.4**.



**Gambar 2.4** Reduksi DPPH dari senyawa antioksidan  
Sumber: (Prakash, 2001)

Reaksi penangkapan hidrogen oleh DPPH dari senyawa antioksidan menyebabkan elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan. Hal tersebut menimbulkan adanya perubahan warna larutan dari ungu tua menjadi kuning terang

secara bertahap sesuai dengan konsentrasi senyawa antioksidan yang diberikan (Rohman *et al.*, 2010). Perubahan warna yang terjadi dapat diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 515-520 nm (Molyneux, 2004). Besarnya efek penangkapan DPPH ditentukan berdasarkan persamaan berikut (Hatano *et al.*, 1998):

$$\text{Efek penangkapan DPPH (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100\%$$

Keterangan:  $A_0$  = Absorbansi kontrol;  $A_1$  = Absorbansi sampel

Nilai aktivitas peredaman radikal bebas dinyatakan dengan nilai  $IC_{50}$  (*Inhibitory Concentration*). Nilai  $IC_{50}$  didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi, sehingga tingkat kekuatan antioksidan semakin besar. Tingkat kekuatan antioksidan menggunakan metode uji DPPH dapat diklasifikasikan sebagai berikut (**Tabel 2.2**):

**Tabel 2.2** Tingkat kekuatan antioksidan

Intensitas	$IC_{50}$
Sangat Aktif	<50 ppm
Aktif	50-100 ppm
Sedang	101-250 ppm
Lemah	250-500 ppm

Sumber: (Jun *et al.*, 2003)

Nilai  $IC_{50}$  merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji ( $\mu\text{g/ml}$ ) yang memberikan peredaman DPPH sebesar 50% (mampu meredam proses oksidasi DPPH sebesar 50%). Nilai 0% berarti tidak mempunyai aktivitas antioksidan, sedangkan nilai 100% berarti peredaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran larutan uji untuk melihat batas konsentrasi aktivitasnya. Hasil perhitungan dimasukkan ke dalam persamaan regresi ( $Y=A+BX$ ) dengan konsentrasi ekstrak (ppm) sebagai absis (sumbu X) dan nilai % peredaman (antioksidan) sebagai kordinatnya (sumbu Y). Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan  $IC_{50}$  masing-masing sampel dinyatakan dengan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang diperoleh sebagai  $IC_{50}$  (Nasution *et al.*, 2015).

## 2.4 Pulsed Electric Field (PEF)

*Pulsed Electric Field* (PEF) merupakan pemberian tegangan listrik pada bahan yang dimaksudkan untuk merusak dinding sel bahan tanpa merusak komponen bioaktif yang ada di dalam sel. PEF menerapkan medan listrik tinggi yang dikontakkan dengan bahan diantara dua elektroda dalam waktu singkat (Sukardi, 2016). Menurut Janositz dan Knorr (2010), perlakuan dengan PEF dapat meningkatkan produksi metabolit sekunder yang berhubungan dengan pengaturan pertahanan hidup sel akibat adanya medan listrik, akumulasi, dan tarik menarik partikel bermuatan pada membran sel yang tidak konduktif sehingga menyebabkan pengurangan ketebalan atau rusaknya membran sel. Rusak atau pecahnya membran akan mengakibatkan laju difusi produk keluar meningkat pada saat ekstraksi sehingga menghasilkan rendemen yang lebih tinggi (Siemar *et al.*, 2012).

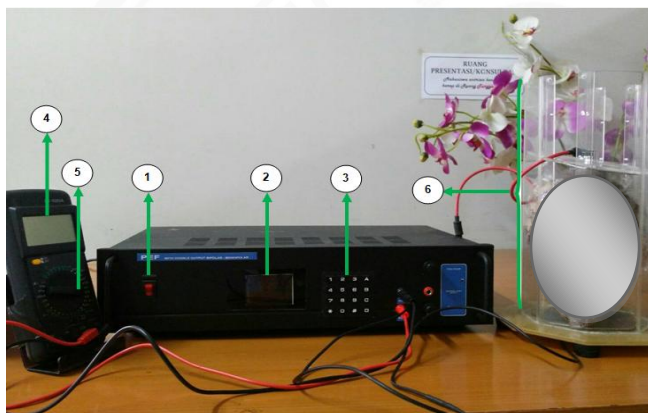
Parameter proses utama yang menentukan perlakuan PEF diantaranya ialah kekuatan medan listrik, lebar pulsa, jumlah pulsa, waktu paparan, frekuensi, energi masukan spesifik, suhu, dan desain *chamber*. Di antara semua itu, tegangan listrik (kekuatan medan listrik) dan waktu paparan adalah parameter kontrol dasar yang mempengaruhi densitas energi yang diterapkan selama proses PEF. Disamping itu, lebar pulsa dan frekuensi berkontribusi dalam menetapkan waktu proses. Kekuatan medan listrik didefinisikan sebagai beda potensial listrik untuk dua elektroda yang ditaruh dalam ruang yang terbagi oleh jarak antara keduanya serta dipisahkan oleh bahan nonkonduktif. Kekuatan medan listrik didefinisikan sebagai berikut (Bhattacharya, 2015; Zhang *et al.*, 2011):

$$E = \frac{U}{d} \dots\dots\dots \text{Persamaan (1)}$$

Dimana  $E$  adalah kekuatan medan listrik [kV/cm],  $U$  adalah beda potensial listrik [V], dan  $d$  adalah jarak antara elektroda [cm].

Menurut Fu'aida dkk. (2016), PEF adalah salah satu metode perlakuan pendahuluan yang dapat di aplikasikan pada proses ekstraksi biji pinang. Pemberian pulsa tegangan tinggi pada perlakuan pendahuluan PEF mengakibatkan timbulnya suatu medan elektrik yang mengakibatkan suatu sel termodifikasi pada membran sel. Selain itu, penggunaan waktu paparan yang tepat pada perlakuan pendahuluan PEF dapat mempengaruhi perubahan struktur sel suatu bahan seperti rusaknya membran sitoplasma sel. Dengan tegangan tinggi dan waktu yang sesuai, memungkinkan keluar masuknya senyawa makromolekul dari sel karena terciptanya lubang pada membran sel yang *irreversible* (Alberts, 1994; Sukardi dkk., 2014).

Metode PEF ini sangat efektif karena tidak merubah warna, bau, rasa, dan kandungan gizi serta nutrisi pada bahan yang diberi perlakuan. Tujuan utama dari PEF adalah untuk meningkatkan rendemen dari suatu ekstraksi dengan penggunaan energi dan waktu yang lebih rendah dibandingkan metode pemanasan lainnya, dikarenakan penerapan PEF memberi kemungkinan lebih baik dalam pengaturan input energi listrik, sehingga dapat menyebabkan terjadinya elektroporasi pada sel tanpa harus menaikkan suhu secara signifikan pada prosesnya (Sukardi dkk., 2016; Bhattacharya, 2015; Zhang *et al.*, 2011). Perangkat alat PEF dapat dilihat pada **Gambar 2.5**.



**Gambar 2.5** Perangkat alat PEF

Keterangan:

1. Tombol *on off*
2. Layar penunjuk frekuensi, waktu paparan, dan lebar pulsa
3. Tombol pengatur frekuensi, waktu paparan, dan *start*
4. Layar penunjuk tegangan
5. Pengatur tegangan
6. Jarak anoda katoda pada ruang perlakuan (*Treatment Chamber*)

## 2.5 Konsumsi Energi selama Perlakuan PEF (*Pulsed Electric Field*)

PEF merupakan salah satu alternatif teknologi menggunakan energi panas yang rendah yaitu antara 9-12 °C (Toepfl *et al.*, 2006). Pada prosesnya, PEF menggunakan tegangan listrik 220-240 volt dan daya 300 watt yang memungkinkan luaran tegangan dari alat PEF dapat meningkat sampai 10.000 volt, sehingga energi listrik juga dapat meningkat. Energi listrik adalah kemampuan untuk melakukan atau menghasilkan usaha listrik (memindahkan muatan dari satu titik ke titik yang lain). Energi listrik pada *pretreatment* menggunakan PEF dapat dianalisa menggunakan perhitungan energi masukan spesifik PEF. Besarnya energi masukan spesifik PEF tergantung pada beberapa hal seperti jarak anoda-katoda, dimensi ruangan, tegangan listrik (kuat medan listrik), dan waktu perlakuan (Sukardi, 2016; Putri dkk., 2009). Perhitungan energi masukan spesifik dapat dilakukan menggunakan beberapa rumus, dimana rumus perhitungan dapat disesuaikan dengan kondisi operasi PEF yang dilakukan.

Toepfl (2006), menyatakan bahwa besarnya energi masukan spesifik dapat diperkirakan berdasarkan energi yang tersimpan pada kapasitor. Perhitungan energi masukan spesifik dapat dilakukan berdasarkan Persamaan (2), dimana energi yang dihasilkan dipengaruhi oleh besarnya tegangan, kapasitas penyimpanan, frekuensi, dan kecepatan aliran massa selama proses PEF.

$$W_{specific} = \frac{U^2 \times C}{2} f \times m \dots\dots\dots \text{Persamaan (2)}$$



Dimana,  $W_{specific}$  = Energi masukan spesifik PEF (kJ/Kg)  
 $U$  = Tegangan (volt)  
 $C$  = kapasitas penyimpanan  
 $f$  = frekuensi (Hz)  
 $m$  = kecepatan aliran massa (Kg/s)

Menurut Nieto *et al.* (2003), energi per pulsa yang disampaikan ke elemen suatu rangkaian listrik pada waktu  $t_1$  adalah integral daya untuk tiap waktunya, yang berdasarkan definisi adalah hasil dari elemen tegangan dan arus yang melaluinya. Perhitungan energi masukan spesifik yang dibutuhkan selama proses dengan PEF dinyatakan dengan Persamaan (3).

$$ED = E_n(t_1) N_p / Vol \dots\dots\dots \text{Persamaan (3)}$$

Dimana ED adalah energi spesifik ( $J/cm^3$ )  
 $N_p$  = jumlah pulsa  
 $Vol$  = volume efektif pada chamber ( $cm^3$ )  
 $E_n$  = energi per pulsa (J)

Zhang *et al.* (1995), mengungkapkan bahwa energi masukan spesifik yang dibutuhkan selama proses dengan PEF dapat dihitung menggunakan persamaan (4). Tegangan puncak yang diberikan selama proses PEF, waktu total proses, resistansi, dan volume *chamber* dapat diketahui selama proses. Adapun persamaannya adalah sebagai berikut:

$$W_{PEF} = \frac{U^2 \times t}{R_c \times V_c} \dots\dots\dots \text{Persamaan (4)}$$

Dimana,  $W_{PEF}$  = Energi masukan spesifik PEF (kilo *Joule*/ $cm^3$ )  
 $U$  = Tegangan (volt)  
 $t$  = Waktu total proses PEF (detik)  
 $t$  = frekuensi x waktu paparan x lebar pulsa x  $1/f$   
 $R_c$  = resistensi/tahanan ( $\Omega$ )  
 $V_c$  = volume *chamber* ( $cm^3$ )



Menurut Turk *et al.* (2012), besarnya energi masukan PEF dapat dihitung menggunakan persamaan (5). Energi minimum yang diperlukan untuk merusak bahan per berat sampel unit dapat diketahui selama proses. Adapun persamaannya adalah sebagai berikut:

$$Q = \frac{U \times I \times n \times t_p}{M \times t_m} \dots\dots\dots \text{Persamaan (5)}$$

- Dimana, Q = Energi masukan spesifik PEF (kJ/Kg)  
 U = Tegangan (volt)  
 I = Kuat arus listrik (A)  
 n = jumlah pulsa  
 tp = waktu dari pulsa (mikrodetik)  
 M = kecepatan aliran massa (Kg)  
 tm = durasi modalitas (ms)

## 2.6 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses penarikan komponen aktif yang terkandung dalam tanaman menggunakan bahan pelarut yang sesuai dengan kelarutan komponen aktifnya (Yuliani dan Suyanti, 2012). Tujuan dari proses ekstraksi adalah untuk mendapatkan komponen/senyawa yang berada dalam bahan dengan proses pemisahan berdasarkan perbedaan kelarutan bahan. Prinsipnya, proses pengekstraksian komponen kimia dalam sel tanaman yaitu pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dalam pelarut organik di luar sel, maka larutan terpekat akan berdifusi keluar sel dan proses ini akan berulang terus sampai terjadi keseimbangan antara konsentrasi cairan zat aktif di dalam dan di luar sel. Hasil ekstraksi kemudian disaring dengan kain saring agar terpisah antara ampas dengan filtratnya (Berk, 2009). Jenis-jenis metode ekstraksi yang dapat digunakan diantaranya ialah: Maserasi, *Ultrasound-Assisted Solvent Extraction*, Perkolasi, Sokhletasi, Reflux, Destilasi, *Microwave Assisted Extraction*, Infus, Dekok, dan Digesti (Azwanida, 2015; Mukhriani, 2014). Beberapa faktor yang mempengaruhi hasil ekstraksi dan perlu untuk diperhatikan antara lain (Maslakhah dkk., 2016):

1. Ukuran bahan

Bahan yang akan diekstrak sebaiknya memiliki luas permukaan yang besar untuk mempermudah kontak antara bahan dengan pelarut sehingga menghasilkan hasil ekstraksi yang optimal. Semakin kecil ukuran partikel, semakin besar luas bidang kontak antara padatan dan pelarut, serta semakin pendek jalur difusinya, yang menjadikan laju transfer massa semakin tinggi. Ukuran luas permukaan suatu bahan yang akan diekstraksi dapat diperluas melalui proses pengecilan ukuran bahan seperti perajangan dan penghalusan.

2. Waktu ekstraksi

Semakin lama waktu ekstraksi yaitu waktu kontak antara pelarut dan bahan, kesempatan untuk bersentuhan semakin besar maka hasil ekstrak juga bertambah sampai titik jenuh larutan. Akan tetapi ekstraksi yang terlalu lama juga dapat berdampak negatif pada hasil ekstrak. Hal ini dikarenakan waktu ekstraksi yang terlalu lama akan memicu pemaparan oksigen lebih banyak yang akan meningkatkan peluang terjadinya oksidasi senyawa fenolik. Waktu ekstraksi yang berlebihan tidak dapat mengekstrak komponen fenolik lebih banyak, hal ini telah dijelaskan hukum kedua difusi bahwa equilibrium akhir akan dicapai antara konsentrasi zat terlarut dalam matriks tanaman dan pelarutnya setelah waktu tertentu. Semakin lama waktu ekstraksi maka kontak antara pelarut dengan bahan yang diekstrak akan semakin lama sehingga dari keduanya akan terjadi pengendapan masa secara difusi sampai terjadi keseimbangan konsentrasi di dalam dan di luar bahan yang diekstraksi.

3. Suhu ekstraksi

Ekstraksi juga akan lebih cepat dilakukan pada suhu tinggi, tetapi hal ini dapat mengakibatkan beberapa komponen yang terdapat dalam bahan akan mengalami kerusakan. Suhu tinggi pelarut dapat meningkatkan efisiensi dari proses ekstraksi karena panas dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel, meningkatkan

kelarutan dan difusi dari senyawa yang diekstrak dan mengurangi viskositas pelarut, namun suhu tinggi juga dapat mendegradasi senyawa polifenol.

#### 4. Jenis dan jumlah pelarut

Pemilihan jenis pelarut sesuai dengan prinsip kelarutan yaitu *like dissolve like*, yaitu pelarut polar akan melarutkan senyawa yang polar sedangkan pelarut non polar akan melarutkan senyawa yang bersifat non polar pula. Ada dua pertimbangan utama dalam pemilihan jenis pelarut, yaitu pelarut harus mempunyai daya larut yang tinggi dan pelarut yang tidak berbahaya atau beracun. Pelarut yang bersifat polar maupun semi polar telah umum digunakan untuk mengekstrak senyawa polifenol dari tanaman seperti buah-buahan dan sayuran. Pelarut yang sering digunakan yaitu aquades, etanol, methanol, aseton, dan etil asetat. Semakin banyak jumlah pelarut yang digunakan, maka semakin banyak pula hasil yang didapatkan, karena distribusi partikel dalam pelarut semakin menyebar, sehingga memperluas permukaan kontak.

Salah satu metode yang mudah untuk dilakukan dan cukup efektif adalah metode ekstraksi secara maserasi, yaitu merendam serbuk tanaman dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel tanaman dan masuk ke rongga sel yang mengandung zat aktif, sehingga zat aktif akan larut dan akan ditarik keluar bersama dengan pelarut. Akan tetapi, maserasi mempunyai kelemahan yaitu waktu ekstraksi yang lama dan membutuhkan banyak pelarut. Ekstraksi dengan metode maserasi dapat dimodifikasi dengan menggunakan tegangan listrik *Pulsed Electric Field* (PEF), sehingga dapat memperpendek waktu ekstraksi dan menurunkan kebutuhan pelarut. Proses ekstraksi menggunakan PEF dilakukan agar senyawa dapat dengan mudah berdifusi ke dalam pelarut (Izza *et al.*, 2016). Proses maserasi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan.

metode maserasi dapat menghindari rusaknya sen-yawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014).

Metode maserasi sederhana, maserasi kinetik/dinamis, infus, digesti, dan dekok merupakan beberapa turunan dari metode maserasi. Dalam maserasi sederhana atau statis, bahan dikontakan dengan pelarut selama 5-14 hari pada suhu kamar dengan pengadukan sporadis. Metode ini bisa mencapai kesetimbangan antara bahan dan pelarut, namun tidak ekstraksi secara menyeluruh. Disamping itu, maserasi ulang adalah metode variabel, di mana pelarut diperbaharui oleh pelarut murni, yang memungkinkan ekstraksi total unsur bahan terlarut dengan pelarut yang digunakan. Dalam maserasi dinamik/kinetik, bahan baku dan pelarut dipertahankan didalam kondisi pengadukan yang konstan. Waktu ekstraksi yang digunakan lebih pendek (1-12 jam) dibanding waktu ekstraksi dengan maserasi statis (5-14 hari), tergantung pada alat dan laju pengadukan. Digesti adalah proses ekstraksi maserasi secara kinetik yang terjadi pada suhu 40 °C sampai 60 °C selama 2-6 jam. Infus dan dekok juga merupakan turunan dari maserasi, menggunakan air sebagai pelarut ekstraktor dan suhu yang lebih tinggi. Dalam infus, air mendidih dituangkan di atas obat herbal, biasanya daun, bunga, kulit kayu, akar, atau rimpang, dibiarkan selama 5-10 menit, lalu disaring. Ini adalah metode tradisional untuk menyiapkan teh herbal atau infus dimana proporsi obat herbal biasanya 5% untuk spesies yang mengandung zat volatil atau termolabil. Dalam dekok, obat herbal ditempatkan dalam air dingin dan kemudian dipanaskan sampai mendidih selama 10-15 menit, di bawah refluks untuk mencegah hilangnya penguapan. Metode ini bermanfaat untuk digunakan pada obat herbal dengan ekstraksi senyawa kimia tahan panas seperti tanin, flavonoid, dan turunan triterpen (Filho, 2012).

## 2.7 Penelitian Terdahulu

Zhang *et al.* (2009), melakukan penelitian dengan judul "*Antioxidant activities of Extract from Areca (Areca catechu L.) Flower, Husk, and Seed*". Tujuan dari penelitian yang dilakukan ialah untuk mengetahui dan membandingkan aktivitas

antioksidan terbaik dari ekstrak sekam, biji, dan buah pinang. Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak biji pinang memiliki sifat antioksidan terbaik, menyajikan nilai  $EC_{50}$  untuk aktivitas penghambatan radikal DPPH sebesar 0,409 mg/ml, aktivitas penghambatan radikal hidroksil sebesar 3,575 mg/ml, dan kemampuan mereduksi sebesar 1,888 mg/ml. Selain itu, rendemen ekstrak, kandungan polifenol dan flavonoid tertinggi ditemukan dari ekstrak biji pinang dengan nilai masing-masing sebesar 8,75%, 114,14 mg/g, dan 77,36 mg/g. Disimpulkan bahwa biji pinang merupakan bahan makanan yang sangat baik dengan potensi nutrisi dan antioksidan yang tinggi.

Hamsar *et al.* (2011), melakukan penelitian dengan judul “*Antioxidant activity and the effect of different parts of areca catechu extracts on Glutathione-S-Transferase activity in vitro*”. Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dan senyawa fenolik total ekstrak pinang pada beberapa bagian seperti biji (biji matang dan mentah), akar dan akar adventif menggunakan pelarut metanol dan air. Aktivitas antioksidan ditentukan dengan menggunakan uji peredam radikal 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) dan total fenol ditentukan menggunakan metode Folin-Ciocalteu. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak air dan ekstrak metanol dari biji yang ditentukan oleh DPPH memberikan penghambatan persentase yang lebih tinggi daripada akar dan akar adventif. Hasilnya juga menunjukkan bahwa biji mentah memiliki kandungan fenolik ( $186,2 \pm 0,04$  mg GAE/g) dan total flavonoid ( $18,13 \pm 0,007$  mg/g) yang lebih tinggi dibandingkan bagian lain dari *A. catechu*. Selain itu, biji pinang mentah dengan pelarut metanol menunjukkan penghambatan aktivitas spesifik GST yang efektif dengan  $IC_{50}$  sebesar 115,05  $\mu$ g/mL dengan penghambatan maksimum > 70%. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak pinang memiliki potensi untuk mencegah kerusakan oksidatif pada sel normal karena karakteristik antioksidannya.

Sulastri (2009), melakukan penelitian dengan judul “Analisis Kadar Tanin Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol pada Biji Pinang Sirih (*Areca catechu* L.)”. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar tanin pada biji pinang sirih dengan

menggunakan pelarut air dan pelarut etanol. Penelitian dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi. Biji pinang sirih dikeringkan dan dihaluskan lalu diayak. Kemudian serbuk dimaserasi dengan pelarut air dan etanol 96% dengan suhu 50-60 °C selama 5 jam, kemudian dievaporasi dan dicuci dengan petroleometer, dan selanjutnya dilakukan uji kualitatif dan penentuan kadar tanin. Hasil penelitian diperoleh kadar tanin dengan menggunakan pelarut air sebanyak 6,45%, dan yang menggunakan pelarut etanol 96% diperoleh sebanyak 8,53%.

Penelitian terdahulu yang mengaplikasikan PEF pada biji pinang dilakukan oleh Fu'aida dkk. (2016), dengan judul "Aplikasi *Pulsed Electric Field* (PEF) sebagai *Pretreatment* pada Ekstraksi Biji Pinang (*Areca catechu* L.) sebagai Sumber Antioksidan Alami (Kajian Besar Tegangan dan Lama Waktu PEF)". Tujuan penelitian tersebut yaitu untuk mendapatkan kombinasi besar tegangan dan lama waktu PEF pada peningkatan rendemen dan penurunan nilai IC<sub>50</sub> biji pinang. Metode yang digunakan pada penelitian adalah rancangan acak kelompok, faktor pertama besar tegangan PEF dengan 2 level, 3,5 dan 4,5 kV/cm, faktor kedua berupa lama waktu PEF dengan tiga level 10, 15, dan 20 detik. Hasil penelitian menunjukkan rendemen dan penurunan nilai IC<sub>50</sub>. kedua faktor menunjukkan beda nyata namun tidak menunjukkan interaksi, sedangkan pada kadar air kedua faktor dan interaksi menunjukkan beda nyata, pada uji LCR seiring meningkatnya nilai kapasitansi rendemen semakin meningkat. Hasil perlakuan terbaik pada besar tegangan PEF 4,5 kV/cm dan lama waktu PEF 20 detik. Dari perlakuan tersebut didapatkan rerata rendemen sebesar 13,04%, aktivitas antioksidan sebesar 13,75 ppm. Hasil uji tanin sebesar 33,33 mg/g.

Rahmah *et al.* (2017), melakukan penelitian dengan judul "*Effect Of Frequency and Duration of Pulsed Electric Field Pre-Treatment on Antioxidant Compounds Extraction of Dry Areca Nut (Areca catechu)*". Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui kombinasi frekuensi dan lama waktu PEF terbaik terhadap rendemen dan kualitas antioksidan ekstrak biji pinang serta mengetahui efisiensi ekstraksi biji pinang menggunakan pretreatment PEF dibandingkan tanpa PEF. Rancangan



percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok pola faktorial dengan dua faktor. Faktor pertama adalah frekuensi PEF dengan tiga level yaitu 1,2; 1,4; dan 1,6 kHz dan faktor kedua adalah waktu aplikasi PEF dengan tiga level yaitu 30, 35 dan 40 detik. Ekstrak biji pinang hasil dari ekstraksi dengan perlakuan pendahuluan PEF dengan kombinasi frekuensi dan lama waktu PEF tidak menghasilkan rendemen dan kualitas yang berbeda secara signifikan. Namun, jika dibandingkan dengan kontrol (tanpa PEF) maka diperoleh hasil yang lebih baik terhadap nilai rendemen, kadar air, aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) dan kadar tanin. Frekuensi dan lama waktu PEF terbaik terhadap rendemen dan kualitas antioksidan ekstrak biji pinang adalah 1,2 kHz dan 30 detik dengan nilai rendemen 4,63%; kadar air 9,18%; nilai  $IC_{50}$  162,23 ppm; dan kadar tanin 507,42 mg GAE / g.

Putri dkk. (2009), melakukan penelitian terkait dengan kebutuhan energi masukan spesifik dengan judul “Aplikasi Mikrokontroler Pada Pembangkit Pulsa Tegangan Tinggi dengan Pengaturan Waktu Pengolahan untuk Pasteurisasi Sari Buah Apel”. Penelitian tersebut bertujuan untuk mendesain pembangkit pulsa tegangan tinggi dengan menggunakan *high voltage transformer* pada pasteurisasi sari buah apel berbasis PEF dengan pengaturan waktu pengolahan serta menganalisis kebutuhan energi masukan spesifik selama proses dan perubahan jumlah mikroba yang terkandung dalam sari buah apel hasil pasteurisasi dengan variasi waktu pengolahan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan, diketahui bahwa tegangan dan arus rata-rata yang dihasilkan rangkaian ialah sebesar 17 kV dan 0,48 mA dengan kuat medan listrik yang dikirim ke chamber sebesar 0,65 kV/cm. Penurunan total mikroba terbesar pada waktu pengolahan 60 detik sebesar 93,53% yang membutuhkan energi spesifik sebesar 175 kJ/l. Semakin lama waktu pengolahan PEF maka total mikroba yang dikandung juga semakin turun tetapi energi spesifik masukan yang dibutuhkan akan meningkat.

Srisuhartatik (2012), melakukan penelitian dengan judul “Analisa Kebutuhan Energi Proses Pasteurisasi Sari Buah Jeruk Pontianak (*Citrus nobilis*) Menggunakan *Pulsed Electric Field*

Sistem *Batch*". Penelitian ini bertujuan untuk menentukan besarnya kebutuhan energi proses pasteurisasi, mencari kuantitas energi yang optimal dan mengetahui kualitas sari buah jeruk pontianak pada berbagai perlakuan pasteurisasi *Pulsed Electric Field*. Perlakuan yang digunakan yaitu besarnya volume bahan dan lama waktu kejut listrik, volume yang digunakan sebesar 100, 250, 400, 550, dan 700 cm<sup>3</sup>. Sedangkan waktu kejut yang dilakukan adalah 10, 50 dan 90 s. Tegangan yang digunakan sama untuk tiap perlakuan yaitu sebesar 35 kV dengan frekuensi 22 kHz. Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah kebutuhan energi, TPC (*Total Plate Count*), bakteri asam laktat, total padatan terlarut, pH dan Vit C. berdasarkan hasil penelitian, kebutuhan energi masukan spesifik pada penelitian ini berkisar antara 2.646 – 166.729.7 J/cm<sup>3</sup>, dimana pertambahan waktu kejut diikuti besarnya kebutuhan energi. Perlakuan terbaik adalah pada perlakuan dengan kombinasi volume sebesar 100 ml dan lama waktu kejut sebesar 90 detik dengan energi sebesar 166.729 J/cm<sup>3</sup>. Dimana untuk parameter biologi nilai total mikroba dan bakteri asam laktat sebesar 9.33x10<sup>1</sup> koloni/cm<sup>3</sup> dan 4x10<sup>1</sup> koloni/cm<sup>3</sup>; Total padatan terlarut sari jeruk sebesar 9.37% brix dan untuk sifat kimia didapatkan hasil untuk Vitamin C sebesar 31.11 mg dan pH (Keasaman) sebesar 5.37. Kualitas sari jeruk hasil pasteurisasi sesuai dengan SNI 01-6019-1999.

## 2.8 Hipotesis

Besarnya energi masukan spesifik yang dipengaruhi oleh tegangan dan waktu PEF diduga berpengaruh terhadap rendemen dan kualitas ekstrak tanin biji pinang.





## BAB III. METODE PENELITIAN

### 3.1 Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Agrokimia, Laboratorium Bioindustri Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Laboratorium Kimia dan Biokimia Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian, serta Institut Biosains Universitas Brawijaya. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli 2017 – April 2018.

### 3.2 Alat dan Bahan

#### 3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam proses pembuatan ekstrak biji pinang meliputi timbangan digital, pisau, *grinder*, *cabinet dryer*, *disc mill*, wadah plastik, sendok, kertas label, Generator *Pulsed Electric Field*, gelas ukur 500 ml, Erlenmeyer 500 ml, *waterbath shaker*, *aluminium foil*, kain saring, kertas saring, corong, botol plastik, kulkas, loyang, plastik, selotip, dan oven. Alat yang digunakan dalam analisa meliputi *Scanning Electron Micrograph*, timbangan analitik, pipet volume, bola hisap, tabung reaksi, labu ukur 10, labu ukur 100 ml, wadah kedap cahaya, mikro pipet, kertas label, rak tabung kayu, *aluminium foil*, batang pengaduk, kuvet, vortex, spektrofotometer UV VIS, oven, desikator, dan cawan petri.

#### 3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam proses pembuatan ekstrak antara lain biji pinang sirih dan aquades. Bahan kimia yang digunakan untuk analisa antara lain aquades, etanol 96%, etanol pa, metanol pa, asam galat,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , Folin Denis, dan DPPH 0,2 mM.

### 3.3 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Penelitian dilakukan pada skala laboratorium.

2. Bahan yang digunakan berupa biji pinang muda hingga setengah tua (warna hijau hingga *orange*) dengan umur  $\pm 9$  bulan yang diperoleh dari Pasar Besar Malang.
3. Pengecilan ukuran biji pinang dilakukan dengan menggunakan pisau, kemudian dihaluskan dengan ukuran 60 mesh selama  $\pm 2$  menit.
4. Bubuk biji pinang yang dihasilkan berupa serbuk berukuran  $\pm 60$  mesh.
5. Perlakuan PEF (*Pulsed Electric Field*) dilakukan dengan aliran listrik DC, frekuensi 6000 Hz, tegangan 3000, 4000, dan 5000 volt, waktu paparan 3, 5, dan 7 menit dengan jarak anoda-katoda 10 cm.
6. Ekstraksi dilakukan dengan metode ekstraksi menggunakan panas selama 2 jam pada suhu  $60^{\circ}\text{C}$ .
7. Analisa rendemen, kadar air, kualitatif tanin, kadar tanin, dan aktivitas antioksidan dilakukan pada semua perlakuan.
8. Analisa SEM dan FTIR dilakukan pada hasil perlakuan kontrol (tanpa PEF) dan perlakuan menggunakan PEF.

### 3.4 Tahapan Penelitian

Diagram alir tahapan penelitian dapat dilihat pada **Gambar 3.1**

### 3.5 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan percobaan dengan 2 faktor, faktor 1 adalah faktor tegangan yang mempunyai 3 level ( $T_1$ ,  $T_2$  dan  $T_3$ ) dan faktor 2 adalah faktor waktu paparan PEF yang mempunyai 3 level ( $W_1$ ,  $W_2$  dan  $W_3$ ) sehingga terdapat 9 kombinasi perlakuan. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga didapatkan 27 satuan percobaan. Kombinasi perlakuan percobaan dapat dilihat pada **Tabel 3.1**.

Faktor 1. Tegangan PEF

$T_1$  : 3 kV

$T_2$  : 4 kV

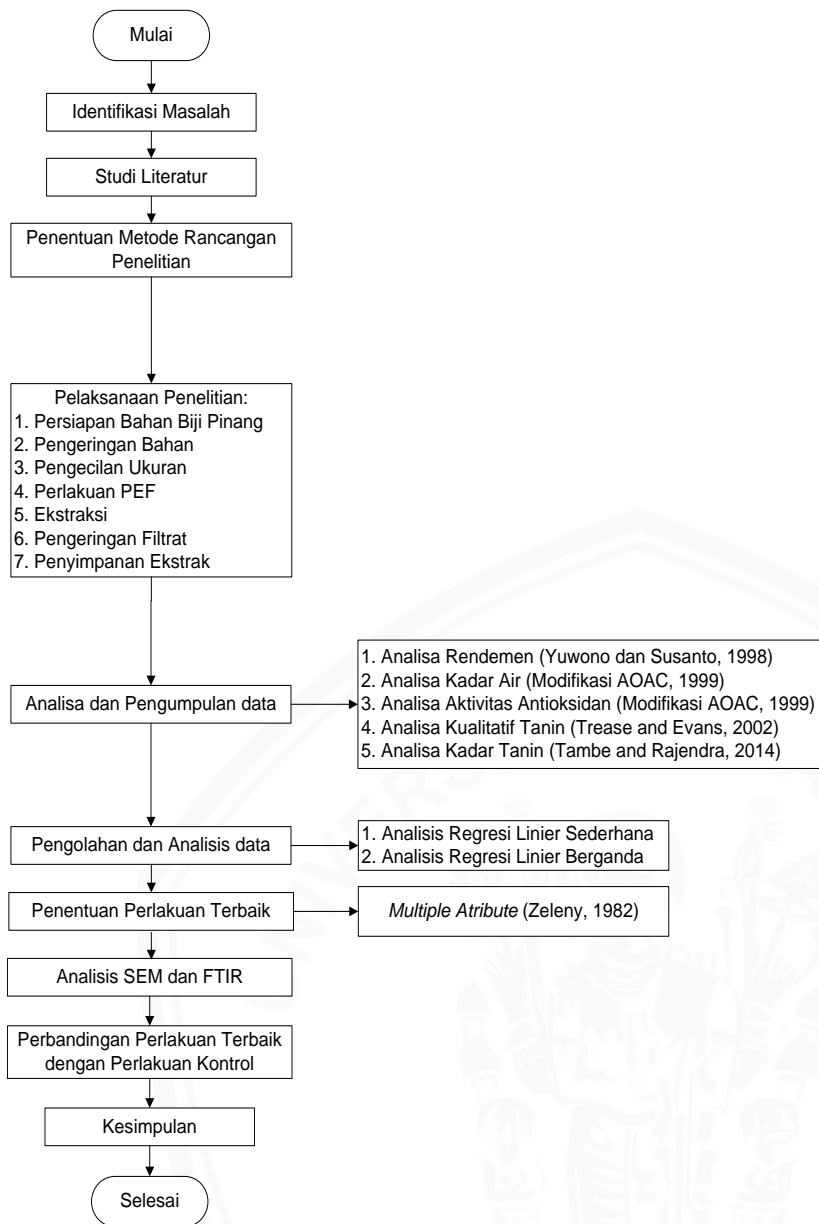
$T_3$  : 5 kV

Faktor 2. Waktu PEF

$W_1$  : 3 menit

$W_2$  : 5 menit

$W_3$  : 7 menit



**Gambar 3.1** Diagram alir tahapan penelitian

**Tabel 3.1.** Kombinasi perlakuan percobaan

	Tegangan PEF	Waktu Paparan PEF		
		W1 (3 menit)	W2 (5 menit)	W3 (7 menit)
1.	T1 (3 kV)	T1W1	T1W2	T1W3
2.	T2 (4 kV)	T2W1	T2W2	T2W3
3.	T3 (5 kV)	T3W1	T3W2	T3W3

Keterangan :

T1W1 : Tegangan PEF 3 kV dengan waktu paparan 3 menit

T1W2 : Tegangan PEF 3 kV dengan waktu paparan 5 menit

T1W3 : Tegangan PEF 3 kV dengan waktu paparan 7 menit

T2W1 : Tegangan PEF 4 kV dengan waktu paparan 3 menit

T2W2 : Tegangan PEF 4 kV dengan waktu paparan 5 menit

T2W3 : Tegangan PEF 4 kV dengan waktu paparan 7 menit

T3W1 : Tegangan PEF 5 kV dengan waktu paparan 3 menit

T3W2 : Tegangan PEF 5 kV dengan waktu paparan 5 menit

T3W3 : Tegangan PEF 5 kV dengan waktu paparan 7 menit

### 3.6 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian utama dilakukan sesuai dengan rancangan percobaan yang telah ditentukan. Tahap pelaksanaan penelitian adalah sebagai berikut:

1. Buah pinang disortasi untuk menghilangkan kotoran atau buah yang busuk.
2. Buah pinang selanjutnya dikupas dan diambil bijinya.
3. Biji pinang dihancurkan dan dikeringkan selama 24 jam pada suhu 50 °C.
4. Biji pinang kering dihaluskan dengan ukuran 60 mesh.
5. Serbuk biji pinang ditimbang 50 gr.
6. Serbuk biji pinang dimasukkan ke dalam *chamber* pada alat generator PEF kemudian dilakukan *pretreatment* kejutan listrik frekuensi 6 kHz dan tegangan masing-masing 3 kV, 4 kV, dan 5 kV pada waktu 3, 5, dan 7 menit.
7. Serbuk biji pinang yang sudah dilakukan *pretreatment* kemudian ditambah akuades (1:4), ditutup *aluminium foil*, dan dimaserasi selama 120 menit pada suhu 60 °C.

8. Dilakukan penyaringan dengan kain saring rangkap 1 dan kertas saring *Whatmann* No. 40 untuk mendapatkan filtrat biji pinang.
9. Dioven selama 24 jam pada suhu 50 °C.
10. Dilakukan perhitungan rendemen, analisa kadar air, aktivitas antioksidan, kadar tanin, dan energi masukan spesifik PEF.

Adapun prosedur penelitian sebagai perlakuan kontrol adalah sebagai berikut:

1. Buah pinang disortasi untuk menghilangkan kotoran atau buah yang busuk.
2. Buah pinang selanjutnya dikupas dan diambil bijinya.
3. Biji pinang dihancurkan dan dikeringkan dalam oven selama 24 jam pada suhu 50 °C.
4. Biji pinang kering dihaluskan dengan ukuran 60 mesh.
5. Serbuk biji pinang ditimbang 50 gr.
6. Ditambahkan pelarut aquades dengan perbandingan 1:4 kemudian di maserasi selama 120 menit pada suhu 60 °C.
11. Dilakukan penyaringan dengan kain saring rangkap 1 dan kertas saring *Whatmann* No. 40 untuk mendapatkan filtrat biji pinang.
7. Dioven selama 24 jam pada suhu 50 °C.
8. Dilakukan perhitungan rendemen analisa kadar air, aktivitas antioksidan, kadar tanin, dan energi masukan spesifik PEF.

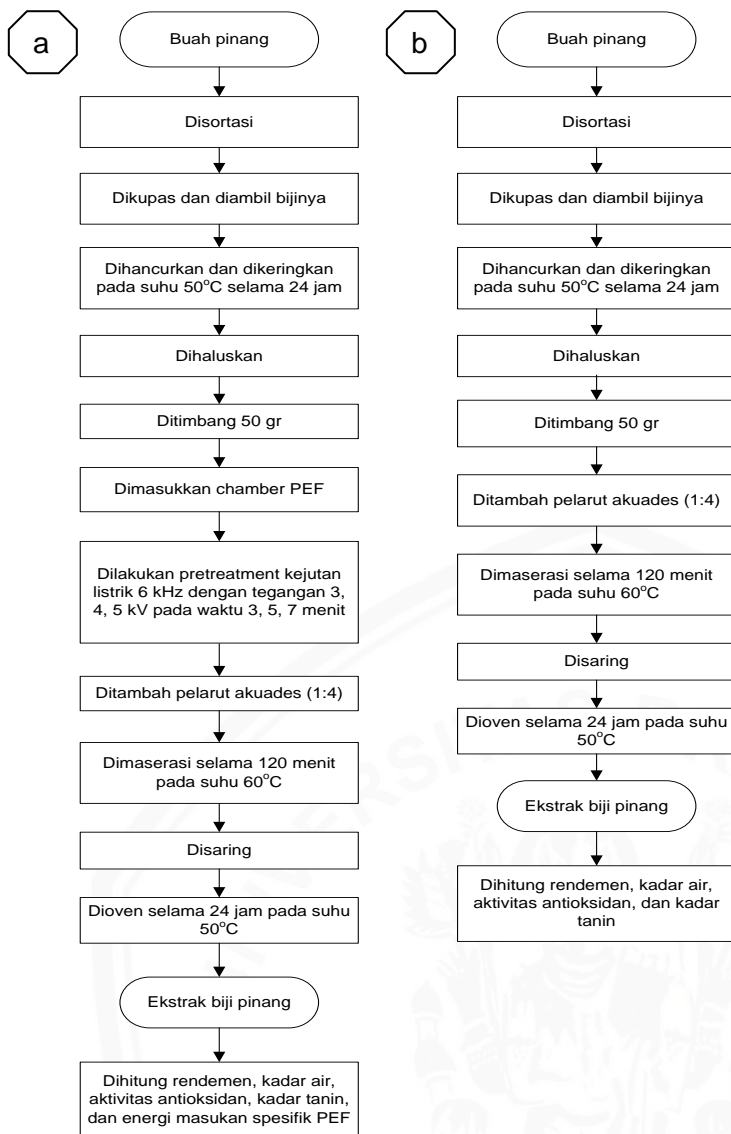
Diagram alir penelitian utama dan perlakuan kontrol dapat dilihat pada **Gambar 3.2**

### 3.7 Analisa Fisik

#### 3.7.1 Analisis Rendemen (Yuwono, dan Susanto, 1998)

Analisa rendemen dilakukan dengan prosedur sebagai berikut:

1. Bahan baku ditimbang sebelum dilakukan pengolahan.
2. Produk yang dihasilkan ditimbang setelah dilakukan pengolahan.
3. Kemudian dibandingkan dengan menggunakan rumus:



**Gambar 3.2** Diagram alir penelitian ( a. penelitian utama; b. penelitian kontrol)

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat produk jadi}}{\text{Berat bahan baku}} \times 100\%$$

4. Didapatkan persentase hasil rendemen dengan ketentuan bahwa berat produk jadi merupakan filtrat kering yang diperoleh dalam satuan gram, lalu berat bahan baku merupakan berat biji buah pinang sebelum dilakukan pengolahan dalam satuan gram.

### 3.7.2 Analisis Kadar Air (Modifikasi AOAC, 1999)

Analisa kadar air dilakukan dengan prosedur sebagai berikut:

1. Cawan kosong dikeringkan dalam oven pada suhu 105 °C dan didinginkan dalam desikator.
2. Setelah dingin, berat cawan ditimbang.
3. Kemudian sampel sebanyak 0,25 gr ditimbang dan dimasukkan dalam cawan kosong tadi.
4. Lalu, cawan yang berisi sampel dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105 °C selama 3 jam.
5. Setelah kering, cawan berisi sampel didinginkan dalam desikator.
6. Setelah dingin, cawan yang berisi sampel ditimbang kembali. Kadar air dihitung berdasarkan persamaan berikut :

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{\text{Berat awal} - \text{Berat akhir}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

### 3.7.3 Analisis Aktivitas Antioksidan Metode DPPH (Modifikasi AOAC, 1999)

Pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dilakukan dengan prosedur sebagai berikut:

1. Sampel ekstrak diencerkan menggunakan aquades pada konsentrasi 1000 ppm.
2. Larutan sampel 1000 ppm diencerkan kembali pada konsentrasi 200, 400, dan 600 ppm.
3. Larutan sampel yang telah diatur konsentrasinya kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi tertutup sebanyak 1 ml.



4. Ditambahkan larutan etanol sebanyak 7 ml dan larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 2 ml.
5. Divortex kurang lebih 1 menit dan didiamkan selama 30 menit.
6. Larutan sampel diambil dan diukur absorbansinya pada  $\lambda = 517 \text{ nm}$
7. Sebelum itu, diukur absorbansi kontrol dan blanko. Absorbansi kontrol merupakan campuran 8 ml larutan etanol pa dengan 2 ml larutan DPPH 0,2 mM, sedangkan blanko merupakan larutan etanol pa.
8. Persen penghambatan dihitung sesuai rumus  $(\%) = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100\%$ .  
 $A_0$  = Absorbansi kontrol  
 $A_1$  = Absorbansi sampel
9. Konsentrasi larutan (ppm) dan absorbansi sampel kemudian diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linier.
10. Persamaan regresi linier yang diperoleh dalam bentuk persamaan  $y = a + bx$  digunakan untuk mencari nilai  $IC_{50}$  dari masing-masing sampel.

#### **3.7.4 Analisis Kualitatif Tanin (Trease and Evans, 2002)**

Analisis kualitatif tanin dilakukan dengan prosedur sebagai berikut:

1. Ekstrak sampel diambil 0,5 gr setiap porsi.
2. Kemudian diaduk dengan sekitar 10 ml air suling lalu disaring.
3. Ditambahkan 2-3 tetes larutan besi klorida 1% ke dalam 2 ml filtrat.
4. Diamati perubahan warna yang terjadi.
5. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam

#### **3.7.5 Analisis Kadar Tanin (Tambe and Rajendra, 2014)**

Analisis kadar tanin dilakukan dengan prosedur sebagai berikut:

1. Dibuat larutan stok asam galat 100 ppm, kemudian diencerkan menjadi 80, 60, 40 dan 20 ppm.
2. Selanjutnya dibuat kurva standar asam galat dengan memasukkan 0,1 ml larutan asam galat berbagai konsentrasi ke dalam labu takar 10 ml.
3. Ditambahkan 7,5 ml akuades, 0,5 ml reagen Folin Ciocalteu, dan 1 ml  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  35%. Kemudian tambahkan akuades sampai tanda batas.
4. Disimpan pada suhu ruang.
5. Diukur absorbansinya pada 725 nm.
6. Selanjutnya dibuat kurva standar dengan sumbu x (konsentrasi asam galat) dan sumbu y (absorbansi). Blanko adalah 8,5 ml akuades, 0,5 ml reagen Folin Ciocalteu, dan 1 ml  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  35%.
7. Untuk mengukur kadar tanin sampel, prosedur dilakukan dengan cara yang sama seperti pembuatan kurva standar, namun asam galat diganti dengan sampel 0,1 ml 1000 ppm.

### 3.8 Perhitungan Energi Masukan Spesifik PEF

Perhitungan energi masukan spesifik PEF yang dibutuhkan selama proses dengan PEF dapat dihitung menggunakan persamaan (4). Tegangan puncak yang diberikan selama proses PEF, waktu total proses, resistansi, dan volume *chamber* dapat diketahui selama proses. Adapun persamaannya adalah sebagai berikut:  $W_{\text{PEF}} = U^2 \times t \times Rc^{-1} \times Vc^{-1}$

Dimana,  $W_{\text{PEF}}$  = Energi masukan spesifik PEF (kilo *Joule*/cm<sup>3</sup>)

$U$  = Tegangan (volt)

$t$  = Waktu total proses PEF (detik)

= frekuensi x waktu paparan x lebar pulsa x  $1/f$

$Rc$  = resistensi/tahanan ( $\Omega$ )

$Vc$  = volume *chamber* (cm<sup>3</sup>)

### 3.9 Pengolahan dan Analisis Data

Pengolahan dan analisis data dilakukan menggunakan analisis regresi linier dengan *software* SPSS. Hal ini dilakukan untuk mengetahui seberapa besar pengaruh variabel bebas

terhadap variabel terikat. Regresi linier merupakan bentuk hubungan di mana variabel bebas (X) maupun variabel tergantung (Y) sebagai faktor yang berpangkat satu. Analisis regresi linier yang digunakan dibedakan menjadi 2, yaitu regresi linier sederhana dan regresi linier berganda. Bentuk fungsi regresi linier yang digunakan dapat dilihat sebagai berikut (Kusuma dan Debrina, 2016):

Regresi linier sederhana:  $Y = a + bX$

Regresi linier berganda :  $Y = a + b_1X_1 + b_2X_2 \dots + b_nX_n$

### 3.10 Pemilihan Perlakuan Terbaik

Pemilihan perlakuan terbaik dilakukan dengan melihat kesesuaian nilai rendemen, kadar air, aktivitas antioksidan, dan kadar tanin. Setelah itu, digunakan metode *Multiple Attribute* atau metode Zeleny (1982) untuk pemilihan perlakuan terbaik didasarkan pada data setiap parameter analisa fisik dari ekstrak biji pinang. Prosedur pemilihan perlakuan terbaik tersebut adalah sebagai berikut:

1. Menentukan nilai ideal pada masing-masing parameter yakni nilai maksimal atau nilai minimal dari suatu parameter. Parameter dengan rerata semakin tinggi semakin baik, maka nilai terendah merupakan nilai terburuk.
2. Menghitung derajat kerapatan (dk) berdasarkan nilai ideal dari setiap parameter. Adapun rumus perhitungan dk adalah:

3. Jika nilai ideal minimal, maka:

$$dk = \frac{\text{nilai kenyataan yang mendekati ideal}}{\text{nilai ideal dari masing-masing alternatif}}$$

Jika nilai ideal maksimal, maka:

$$dk = \frac{\text{nilai ideal dari masing-masing alternatif}}{\text{nilai kenyataan yang mendekati ideal}}$$

4. Menghitung jarak kerapatan (Lp) yang diasumsikan bahwa semua parameter penting. Jarak kerapatan ( $\Lambda$ ) dihitung berdasarkan jumlah parameter yang dianalisis. Adapun rumus perhitungannya sebagai berikut:

$$\Lambda = \frac{1}{\sum \text{parameter}}$$

$$L1 = 1 - \sum (\lambda^2 \times (1-dk)^2)$$

$$L2 = \sum (\lambda^2 \times (1-dk)^2)$$

$$L^\infty = \text{nilai maksimal } (\lambda \times (1-dk))$$

### 3.11 Pengukuran SEM Perlakuan PEF dan Perlakuan Kontrol (tanpa PEF)

#### 3.11.1 Pengukuran SEM Perlakuan PEF

Tahap pelaksanaan pengukuran SEM untuk perlakuan PEF adalah sebagai berikut:

1. Buah pinang disortasi untuk menghilangkan kotoran atau buah yang busuk.
2. Buah pinang selanjutnya dikupas dan diambil bijinya.
3. Biji pinang dihancurkan dan dikeringkan selama 24 jam pada suhu 50 °C.
4. Biji pinang kering dihaluskan dengan ukuran 60 mesh.
5. Serbuk biji pinang ditimbang 50 gr.
6. Serbuk biji pinang dimasukkan ke dalam *chamber* pada alat generator PEF kemudian dilakukan *pretreatment* kejutan listrik frekuensi 6 kHz dan tegangan 3 kV pada waktu 3 menit (T1W1).
7. Dianalisis SEM
8. Diamati hasil SEM.

#### 3.11.2 Pengukuran SEM Perlakuan Kontrol

Tahap pelaksanaan pengukuran SEM untuk perlakuan kontrol adalah sebagai berikut:

1. Buah pinang disortasi untuk menghilangkan kotoran atau buah yang busuk.
2. Buah pinang selanjutnya dikupas dan diambil bijinya.
3. Biji pinang dihancurkan dan dikeringkan dalam oven selama 24 jam pada suhu 50°C.
4. Biji pinang kering dihaluskan dengan ukuran 60 mesh.
5. Serbuk biji pinang ditimbang 50 gr.
6. Dianalisis SEM.
7. Diamati hasil analisis SEM.

Diagram alir pengukuran SEM pada perlakuan terbaik dan perlakuan kontrol dapat dilihat pada **Gambar 3.3**

### 3.12 Analisa FTIR Perlakuan Terbaik dan Perlakuan Kontrol

#### 3.12.1 Analisa FTIR Perlakuan Terbaik

Tahap pelaksanaan pengukuran FTIR untuk perlakuan terbaik adalah sebagai berikut:

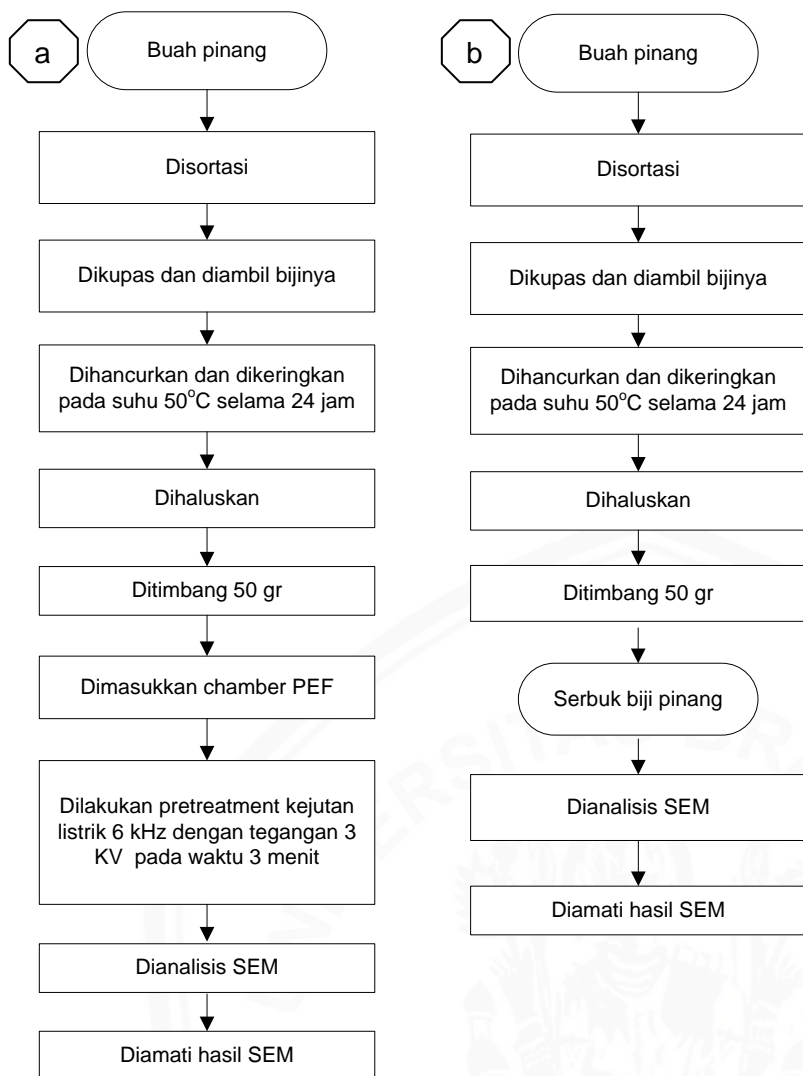
1. Buah pinang disortasi untuk menghilangkan kotoran atau buah yang busuk.
2. Buah pinang selanjutnya dikupas dan diambil bijinya.
3. Biji pinang dihancurkan dan dikeringkan selama 24 jam pada suhu 50 °C.
4. Biji pinang kering dihaluskan dengan ukuran 60 mesh.
5. Serbuk biji pinang ditimbang 50 gr.
6. Serbuk biji pinang dimasukkan ke dalam *chamber* pada alat generator PEF kemudian dilakukan *pretreatment* kejutan listrik frekuensi 6 kHz dan tegangan masing-masing 3 kV, 4 kV, dan 5 kV pada waktu 3, 5, dan 7 menit.
7. Diolah hingga mendapatkan ekstrak.
8. Ditentukan perlakuan terbaik berdasarkan hasil analisa.
9. Dilakukan analisis FTIR pada perlakuan terbaik.
10. Diamati hasil FTIR.

#### 3.12.2 Analisa FTIR Perlakuan Kontrol

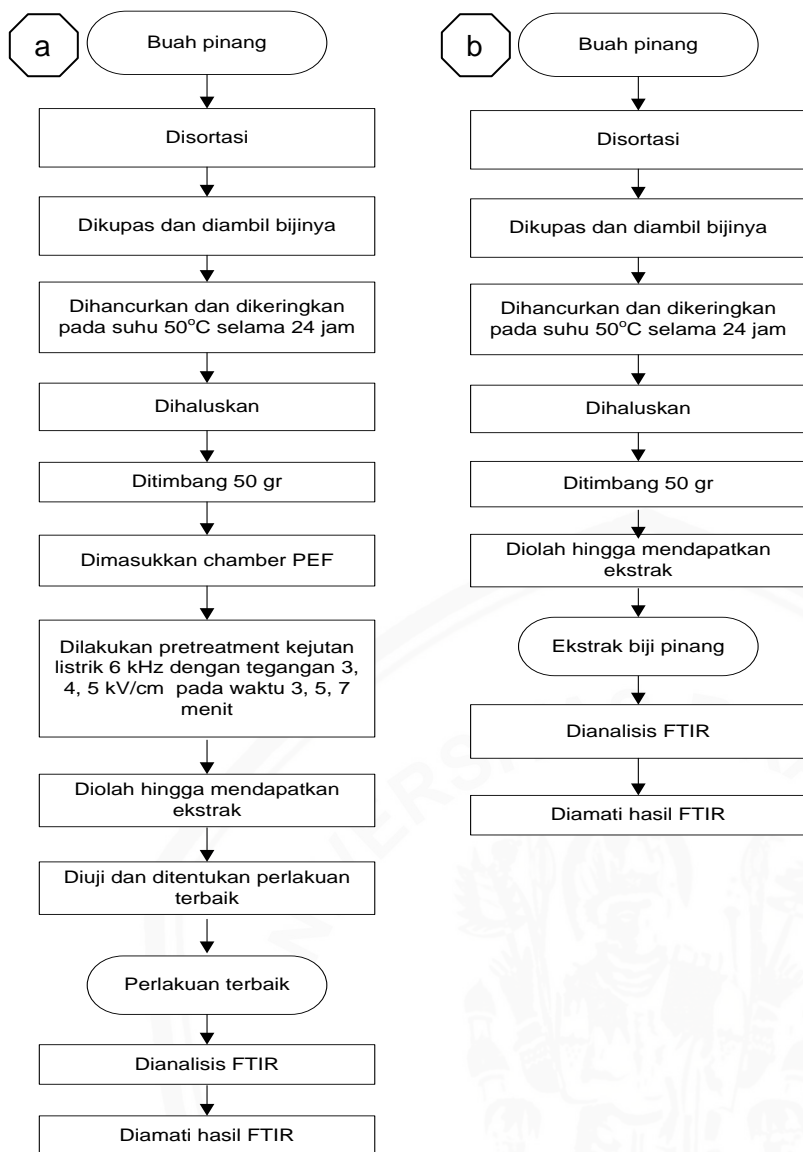
Tahap pelaksanaan pengukuran SEM untuk perlakuan kontrol adalah sebagai berikut:

1. Buah pinang disortasi untuk menghilangkan kotoran atau buah yang busuk.
2. Buah pinang selanjutnya dikupas dan diambil bijinya.
3. Biji pinang dihancurkan dan dikeringkan dalam oven selama 24 jam pada suhu 50 °C.
4. Biji pinang kering dihaluskan dengan ukuran 60 mesh.
5. Serbuk biji pinang ditimbang 50 gr.
6. Diolah hingga mendapatkan ekstrak.
7. Dianalisis FTIR. Lalu diamati hasil FTIR.

Diagram alir pengukuran FTIR pada perlakuan terbaik dan perlakuan kontrol dapat dilihat pada **Gambar 3.4**



**Gambar 3.3** Diagram alir SEM ( a. perlakuan PEF; b. perlakuan kontrol)



**Gambar 3.4** Diagram alir FTIR ( a. perlakuan terbaik; b. perlakuan kontrol)

### 3.13 Perbandingan Perlakuan Terbaik dengan Perlakuan Kontrol

Perlakuan terbaik yang didapatkan akan dibandingkan dengan perlakuan kontrol (non-PEF). Parameter yang dibandingkan meliputi rendemen, kadar air, aktivitas antioksidan, kualitatif tanin, kadar tanin, dan energi masukan spesifik PEF. Perbandingan tersebut dilakukan agar dapat diketahui adanya peningkatan ataupun penurunan kualitas pada ekstrak biji pinang yang terjadi dari proses ekstraksi dengan dan tanpa perlakuan PEF. Perbandingan dirumuskan seperti pada **Tabel 3.2**.

**Tabel 3.2** Perbandingan perlakuan terbaik dengan kontrol

Parameter	Perlakuan Terbaik	Perlakuan Kontrol
Rendemen (%)	x	x
Kadar air (%)	x	x
Aktivitas antioksidan (ppm)	x	x
Kualitatif Tanin (+/-)	x	x
Kadar tanin (mg GAE/g)	x	x
Energi masukan spesifik PEF (kJ/cm <sup>3</sup> )	x	x





## BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Karakterisasi Ekstrak Tanin Biji Pinang

#### 4.1.1 Rendemen

Rendemen ekstrak merupakan perbandingan antara bobot ekstrak yang dihasilkan selama proses dengan bobot simplisia yang digunakan. Semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menunjukkan ekstrak yang dihasilkan semakin banyak. Rendemen ekstrak dinyatakan dalam satuan persen (% b/b). Data hasil penelitian rendemen ekstrak tanin biji pinang secara keseluruhan dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

Hasil analisis statistik dengan tingkat kepercayaan 95 % ( $\alpha = 0,05$ ) menunjukkan bahwa variabel tegangan PEF dan variabel waktu PEF baik secara masing-masing maupun bersama-sama tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap rendemen ekstrak tanin biji pinang. Hal ini ditunjukkan dengan nilai *sig* lebih besar dari 0,05. Namun, hasil koefisien determinasi ( $R^2$ ) menunjukkan nilai sebesar 0,054. Koefisien determinasi diartikan sebagai seberapa besar kemampuan semua variabel bebas dalam menjelaskan varians dari variabel terikatnya. Hal tersebut mengartikan bahwa kemampuan variabel tegangan PEF dan variabel waktu PEF dalam menjelaskan varians dari variabel rendemen adalah sebesar 5,4%. Dapat juga diartikan bahwa variabel tegangan PEF dan variabel waktu PEF memberikan pengaruh secara bersama-sama terhadap variabel rendemen sebesar 5,4%. Diduga karena penetapan jarak antar perlakuan yang terlalu besar pada variabel tegangan PEF dan waktu paparan PEF mengakibatkan perubahan hasil rendemen yang cenderung fluktuatif sehingga menghasilkan nilai  $R^2$  yg rendah. Menurut Nieto *et al.* (2003), semakin tinggi tegangan PEF dan waktu paparan PEF yang dikenakan pada bahan maka energi yang diterima bahan juga semakin besar, sehingga tingkat kerusakan membran sel juga semakin besar. Diduga dengan bertambahnya tegangan PEF dan waktu paparan PEF yang terlalu besar, energi yang diterima bahan melebihi ambang batas sehingga terdapat sebagian kandungan tanin yang hilang atau terdegradasi. Berdasarkan

hal diatas maka terdapat 94,6% ( $100\%-5,4\%$ ) varians variabel rendemen yang dijelaskan atau dipengaruhi oleh faktor lain.

Faktor lain yang dapat mempengaruhi variabel rendemen diantaranya ialah faktor pengecilan ukuran dan ekstraksi. Pengecilan ukuran adalah suatu proses mengurangi massa dari suatu bahan padatan yang besar menjadi ukuran yang lebih kecil. Menurut Sushant and Kamath (2013), pengecilan ukuran akan menambah luas permukaan suatu bahan menjadi lebih besar sehingga mempermudah proses pengolahan lanjutan dari bahan tersebut. Diduga bahwa pengecilan ukuran bahan sebesar 60 mesh yang dilakukan sudah dapat membuka atau merusak dinding sel bahan, sehingga perlakuan PEF yang diberikan terhadap bahan tidak terlalu berpengaruh terhadap rendemen dan bahkan dapat merusak bagian dalam sel dikarenakan dinding sel yang sudah rusak terlebih dahulu. Selain itu, faktor lain yang dapat mempengaruhi variabel rendemen ialah faktor ekstraksi seperti waktu ekstraksi, suhu ekstraksi, dan rasio pelarut. Menurut Maslukhah dkk. (2016), semakin lama waktu ekstraksi yaitu waktu kontak antara pelarut dan bahan, kesempatan untuk bersentuhan semakin besar maka hasil ekstrak juga bertambah sampai titik jenuh larutan. Akan tetapi ekstraksi yang terlalu lama juga dapat berdampak negatif pada hasil ekstrak. Hal ini dikarenakan waktu ekstraksi yang terlalu lama akan memicu pemaparan oksigen lebih banyak yang akan meningkatkan peluang terjadinya oksidasi senyawa fenolik. Berdasarkan hal tersebut, diduga bahwa penerapan waktu ekstraksi yang dilakukan selama 2 jam terlalu lama sehingga dapat mengoksidasi beberapa senyawa fenolik yang terdapat dalam bahan, termasuk tanin. Disamping itu, ekstraksi juga akan lebih cepat dilakukan pada suhu tinggi, tetapi hal ini dapat mengakibatkan beberapa komponen yang terdapat dalam bahan akan mengalami kerusakan. Suhu tinggi pelarut dapat meningkatkan efisiensi dari proses ekstraksi karena panas dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel, meningkatkan kelarutan dan difusi dari senyawa yang diekstrak, dan mengurangi viskositas pelarut, namun suhu tinggi juga dapat mendegradasi senyawa polifenol. Berdasarkan hal tersebut, diduga bahwa penerapan suhu ekstraksi sebesar 60

°C dapat mendegradasi atau merusak beberapa senyawa polifenol yang terdapat dalam bahan, termasuk tanin. Lalu, dikatakan pula bahwa berdasarkan rasio pelarut, semakin banyak jumlah pelarut yang digunakan, maka semakin banyak pula hasil yang didapatkan, karena distribusi partikel dalam pelarut semakin menyebar, sehingga memperluas permukaan kontak. Berdasarkan hal tersebut, diduga bahwa penerapan rasio pelarut 1:4 (simplisia 50 gr: pelarut 200 ml) terlalu kecil sehingga tercapai titik jenuh larutan, yakni suatu titik ketika penambahan partikel terlarut sudah tidak dapat menyebabkan partikel tersebut melarut. Hal tersebut mengakibatkan senyawa yang terdapat dalam bahan sudah tidak dapat lagi terekstrak, sehingga rendemen yang dihasilkan rendah.

Persamaan regresi yang dihasilkan ialah sebagai berikut:  $Y = 7,262 + 0,118 X_1 - 0,219 X_2$ , dimana Y adalah variabel rendemen,  $X_1$  adalah variabel tegangan PEF, dan  $X_2$  adalah variabel waktu PEF. Nilai konstanta sebesar 7,262 mengartikan bahwa jika variabel tegangan PEF ( $X_1$ ) dan variabel waktu PEF ( $X_2$ ) nilainya adalah 0, maka nilai dari variabel rendemen (Y) adalah sebesar 7,262. Nilai koefisien regresi variabel tegangan PEF ( $X_1$ ) sebesar 0,118 mengartikan bahwa jika variabel independen lain nilainya tetap dan variabel tegangan PEF mengalami kenaikan 1%, maka nilai variabel rendemen akan mengalami peningkatan sebesar 0,118. Nilai koefisien regresi variabel waktu PEF ( $X_2$ ) sebesar - 0,219 mengartikan bahwa jika variabel independen lain nilainya tetap dan variabel waktu PEF mengalami kenaikan 1%, maka nilai variabel rendemen akan mengalami penurunan sebesar 0,219. Hasil analisis statistik dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

Pada **Tabel 4.1**, jika dibandingkan dengan rendemen kontrol (tanpa PEF) dengan nilai rendemen sebesar 4,73%, perlakuan PEF memberikan peningkatan rendemen (antara 32,55% sampai 66,38%) dengan rata-rata peningkatan sebesar 49,26%. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Siemar *et al.* (2012) yang mengatakan bahwa pemberian perlakuan pendahuluan PEF pada bahan akan mengakibatkan rusak atau pecahnya dinding sel. Rusak atau pecahnya dinding tersebut akan mengakibatkan laju difusi produk keluar meningkat pada

saat ekstraksi sehingga menghasilkan rendemen yang lebih tinggi. Hal ini dikuatkan oleh Gould (1995), yang menyatakan bahwa pemberian kejutan listrik dapat membuat lubang/pori pada dinding sel tanaman, sedangkan tanpa adanya pemberian kejutan listrik pada sel tanaman tidak ada lubang/pori yang terbentuk.

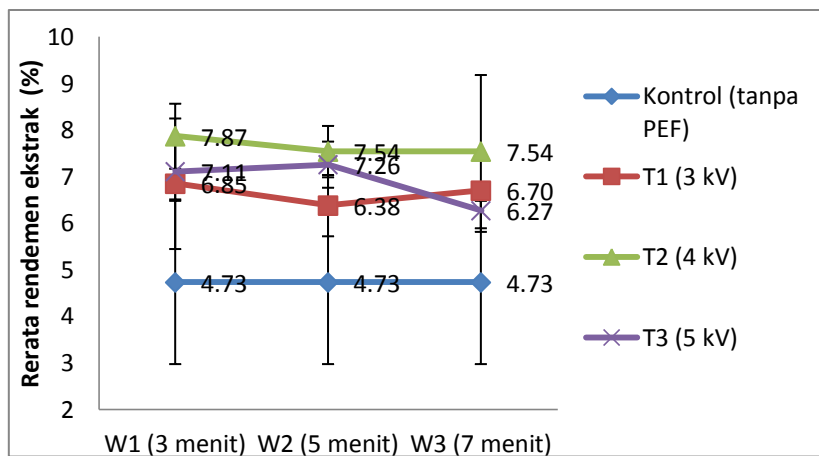
**Tabel 4.1** Rata-rata nilai rendemen ekstrak tanin biji pinang

Perlakuan	Tegangan PEF (kV)	Waktu paparan PEF (menit)	Rerata rendemen (%)	Peningkatan % <sup>1)</sup>
T1W1	3	3	6,85 ± 1,40	44,82
T1W2	3	5	6,38 ± 0,66	34,88
T1W3	3	7	6,70 ± 0,18	41,65
T2W1	4	3	7,87 ± 0,70	66,38
T2W2	4	5	7,54 ± 0,55	59,41
T2W3	4	7	7,54 ± 1,65	59,41
T3W1	5	3	7,11 ± 0,60	50,32
T3W2	5	5	7,26 ± 0,50	53,49
T3W3	5	7	6,27 ± 0,45	32,55
Rata-rata			7,06	49,26
Kontrol (tanpa PEF)			4,73 ± 1,75	

<sup>1)</sup> dibanding kontrol (tanpa PEF)

Pada **Gambar 4.1** terlihat bahwa rendemen ekstrak tanin biji pinang berkisar antara 6,27% - 7,87%. Rerata rendemen tertinggi diperoleh pada perlakuan tegangan PEF 4 kV dan waktu PEF 3 menit (T2W1) yaitu sebesar 7,87%, sedangkan rerata rendemen terendah diperoleh pada perlakuan tegangan PEF 5 kV dan waktu PEF 7 menit (T3W3) yaitu sebesar 6,27%. Rendemen terendah dihasilkan pada pemberian tegangan PEF sebesar 3 kV (6,85%; 6,38%, 6,70%). Diduga bahwa tegangan pulsa listrik yang diberikan belum sepenuhnya membuka pori-pori sel sehingga rendemen ekstrak yang dihasilkan masih terbilang rendah. Menurut Alberts (1994), semakin tinggi tegangan pulsa listrik yang diberikan akan mempengaruhi lubang-lubang pada membran luar dari sel sampai batas tidak

mampu diperbaiki lagi sehingga memungkinkan rendemen yang dihasilkan lebih tinggi. Hal ini dikuatkan oleh Fu'aida dkk. (2016), yang menunjukkan bahwa rendemen ekstrak biji pinang akan meningkat seiring dengan semakin besar tegangan PEF dan waktu PEF yang diterapkan.



**Gambar 4.1** Grafik rata-rata nilai rendemen ekstrak tanin biji pinang

Penurunan rendemen paling tinggi terjadi pada perlakuan tegangan PEF 5 kV dan waktu PEF 7 menit (T3W3), terjadinya penurunan tersebut diduga karena penerapan tegangan PEF yang terlalu besar dan waktu PEF yang terlalu lama sehingga dapat mengakibatkan rusaknya membran sel biji pinang yang terlalu tinggi. Hal tersebut mengakibatkan sebagian besar kandungan ekstrak tanin biji pinang dapat ikut rusak sebelum proses ekstraksi berlangsung. Hal ini bertolak belakang dengan pendapat yang dikemukakan oleh Knorr *et al.* (1994), yang menyatakan bahwa peningkatan intensitas perlakuan PEF dengan meningkatkan kekuatan tegangan listrik dan/atau waktu paparan dalam sistem akan menghasilkan pembentukan pori-pori pada dinding sel yang semakin besar dan tidak mampu diperbaiki lagi. Hal tersebut memungkinkan keluar masuknya senyawa makromolekul dari sel dan menghasilkan rendemen yang semakin tinggi. Namun, menurut Christina dan Florentina (2017), seiring penambahan waktu dan daya yang lebih besar

menyebabkan konsentrasi tanin berkurang, hal tersebut terjadi karena adanya tanin yang terdegradasi. Menurut Janositz and Knorr (2010), peningkatan waktu PEF dapat menghasilkan peningkatan rendemen, namun jangka waktu yang lama dapat menurunkan rendemen karena resistansi membran yang berkurang.

Rendemen ekstrak tanin biji pinang yang dihasilkan diduga tidak hanya terdiri dari senyawa tanin. Menurut Sulastris (2009), tanin yang terdapat dalam biji pinang sirih yang diekstrak menggunakan pelarut air ialah rata-rata sebesar 6,45%. Sehingga tinggi rendahnya nilai rendemen ekstrak tanin biji pinang yang dihasilkan diduga karena adanya beberapa senyawa polifenol lain yang dapat larut dalam air dan ikut terekstrak.

#### 4.1.2 Kadar Air

Kadar air merupakan jumlah air yang terdapat di dalam bahan. Kadar air yang terdapat dalam (simplisia) biji pinang ialah sebesar 3,52%. Kadar air tersebut terbilang rendah karena spesifikasi kadar air simplisia biji pinang menurut Sa'roni dan Adjirni (2005) ialah sebesar  $6,88\% \pm 0,27$ . Menurut Moeksin dan Stefanus (2009), kondisi sampel sangat berpengaruh dalam menghasilkan rendemen yang terbaik, semakin rendah kandungan air dalam bahan maka proses ekstraksi semakin baik dan cepat sehingga energi yang dibutuhkan lebih sedikit. Data hasil penelitian kadar air ekstrak tanin biji pinang secara keseluruhan dapat dilihat pada **Lampiran 3**.

Hasil analisis statistik dengan tingkat kepercayaan 95 % ( $\alpha = 0,05$ ) menunjukkan bahwa variabel tegangan PEF dan variabel waktu PEF baik secara masing-masing maupun bersama-sama tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar air ekstrak tanin biji pinang. Hal ini ditunjukkan dengan nilai *sig* lebih besar dari 0,05. Namun, hasil koefisien determinasi ( $R^2$ ) menunjukkan nilai sebesar 0,029. Koefisien determinasi diartikan sebagai seberapa besar kemampuan semua variabel bebas dalam menjelaskan varians dari variabel terikatnya. Hal tersebut mengartikan bahwa kemampuan variabel tegangan PEF dan variabel waktu PEF dalam



menjelaskan varians dari variabel kadar air adalah sebesar 2,9%. Dapat juga diartikan bahwa variabel tegangan PEF dan variabel waktu PEF memberikan pengaruh secara bersama-sama terhadap variabel kadar air sebesar 2,9%. Diduga karena penetapan jarak antar perlakuan yang terlalu besar pada variabel tegangan PEF dan waktu paparan PEF mengakibatkan perubahan hasil kadar air yang cenderung fluktuatif sehingga menghasilkan nilai  $R^2$  yang rendah. Menurut Sukardi (2016), semakin besar tegangan dan waktu PEF yang diterapkan mengakibatkan pergerakan ion melalui membran sel lebih aktif sehingga membentuk pintu kanal ion karena adanya beda potensial di dalam dan diluar sel. Gerakan ion-ion yang semakin intensif seiring dengan meningkatnya tegangan dan waktu PEF yang diterapkan dapat meningkatkan porositas membran sel sehingga elektroporasi berjalan lebih massif. Diduga dampak dari terjadinya elektroporasi massif mengakibatkan rusaknya sebagian bahan aktif tanin yang terdapat dalam biji pinang sehingga *crude* tanin yang didapatkan lebih sedikit dan kandungan air yang dihasilkan lebih besar. Berdasarkan hal diatas maka terdapat 97,1% (100%-2,9%) varians variabel kadar air yang dijelaskan atau dipengaruhi oleh faktor lain.

Faktor lain yang dapat mempengaruhi kadar air ialah faktor pengeringan. Menurut Purwaningsih (2007), pengeringan adalah proses menghilangkan sebagian air dari suatu bahan. Menurut Pengeringan ekstrak tanin biji pinang dilakukan selama 24 jam pada suhu 50 °C. Diduga suhu pengeringan pada oven tidak stabil dan tidak tersebar secara merata pada masing-masing *tray oven* sehingga proses pengeringan tidak berjalan sempurna. Hal tersebut menyebabkan kadar air bahan yang dihasilkan berbeda-beda. Disamping itu, pengeringan dengan suhu rendah dan waktu yang lebih lama dapat lebih merusak bahan pangan dibanding dengan pengeringan suhu tinggi dan waktu yang lebih pendek (Estiasih dan Ahmadi, 2009).

Persamaan regresi yang dihasilkan ialah sebagai berikut:  $Y = 7,7632 - 0,047 X_1 - 0,679 X_2$ , dimana Y adalah variabel kadar air,  $X_1$  adalah variabel tegangan PEF, dan  $X_2$  adalah variabel waktu PEF. Nilai konstanta sebesar 7,2632 mengartikan bahwa jika variabel tegangan PEF ( $X_1$ ) dan



variabel waktu PEF (X2) nilainya adalah 0, maka nilai dari variabel kadar air (Y) adalah sebesar 7,2632. Nilai koefisien regresi variabel tegangan PEF (X1) sebesar - 0,047 mengartikan bahwa jika variabel independen lain nilainya tetap dan variabel tegangan PEF mengalami kenaikan 1%, maka nilai variabel kadar air akan mengalami penurunan sebesar 0,047. Nilai koefisien regresi variabel waktu PEF (X2) sebesar - 0,679 mengartikan bahwa jika variabel independen lain nilainya tetap dan variabel waktu PEF mengalami kenaikan 1%, maka nilai variabel kadar air akan mengalami penurunan sebesar 0,679. Hasil analisis statistik dapat dilihat pada **Lampiran 4**.

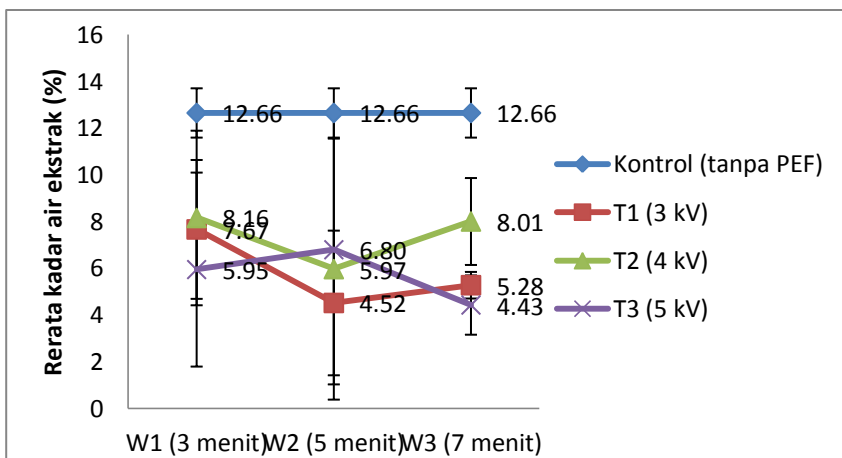
**Tabel 4.2** Rata-rata nilai kadar air ekstrak tanin biji pinang

Perlakuan	Tegangan PEF (kV)	Waktu paparan PEF (menit)	Rerata kadar air (%)	Penurunan % <sup>1)</sup>
T1W1	3	3	7,67 ± 2,97	39,42
T1W2	3	5	4,52 ± 3,10	64,30
T1W3	3	7	5,28 ± 0,57	58,29
T2W1	4	3	8,16 ± 3,74	35,55
T2W2	4	5	5,97 ± 5,59	52,84
T2W3	4	7	8,01 ± 1,86	36,73
T3W1	5	3	5,95 ± 4,16	53,00
T3W2	5	5	6,80 ± 5,77	46,29
T3W3	5	7	4,43 ± 1,27	65,01
Rata-rata			6,31	50,16
Kontrol (tanpa PEF)			12,66 ± 1,06	

<sup>1)</sup> dibanding kontrol (tanpa PEF)

Pada **Tabel 4.2**, jika dibandingkan dengan kadar air kontrol (tanpa PEF) dalam bentuk ekstrak dengan nilai kadar air sebesar 12,66%, perlakuan PEF memberikan penurunan kadar air (antara 35,55% sampai 65,01%) dengan rata-rata penurunan sebesar 50,16%. Terlihat bahwa dengan adanya perlakuan pendahuluan PEF menyebabkan terjadinya penurunan pada kadar air ekstrak biji pinang. Diduga bahwa kejutan listrik dapat membuka pori-pori dinding sel biji pinang sehingga dapat

mempermudah perpindahan bahan aktif tanin ke dalam pelarut. Hal tersebut menunjukkan bahwa dengan adanya PEF, *crude* tanin dalam ekstrak yang dihasilkan lebih banyak dengan kandungan air lebih sedikit sedangkan tanpa PEF dihasilkan *crude* tanin lebih sedikit dikarenakan kadar air lebih besar.



**Gambar 4.2** Grafik rata-rata nilai kadar air ekstrak tanin biji pinang

Pada **Gambar 4.2** terlihat bahwa kadar air ekstrak tanin biji pinang berkisar antara 4,43% - 8,16%. Rerata kadar air tertinggi diperoleh pada perlakuan tegangan PEF 4 kV dan waktu PEF 3 menit (T2W1) yaitu sebesar 8,16%, sedangkan rerata kadar air terendah diperoleh pada perlakuan tegangan PEF 4 kV dan waktu PEF 3 menit (T3W3) yaitu sebesar 4,43%. Kecenderungan perubahan grafik yang ditunjukkan pada penerapan tegangan PEF 3kV (T1) dan 4kV (T2) ialah sama, yakni pada waktu PEF 3 menit (W1) kadar air yang dihasilkan cenderung tinggi. Pada waktu PEF 5 menit (W2), kadar air akan mengalami penurunan lalu kemudian akan naik kembali pada waktu PEF 7 menit (W3). Diduga pada waktu PEF 3 menit (W1), waktu paparan PEF yang diberikan belum sepenuhnya membuka pori-pori dinding sel. Hal ini mengakibatkan *crude* tanin yang dihasilkan lebih sedikit sehingga kadar air yg dihasilkan lebih besar. Lalu diduga pada waktu PEF 5 menit (W2), waktu kejutan listrik PEF yang diberikan sudah dapat

membuka pori-pori dinding sel biji pinang sehingga dapat mempermudah perpindahan bahan aktif tanin ke dalam pelarut. Hal ini mengakibatkan *crude* tanin yang dihasilkan lebih banyak sehingga kadar air yg dihasilkan lebih rendah. Sedangkan pada waktu PEF 7 menit (W3), diduga penerapan waktu kejutan listrik PEF yang terlalu lama dapat mengakibatkan rusaknya sebagian kandungan bahan aktif tanin, sehingga *crude* tanin yang dihasilkan lebih sedikit dan kadar air yang dihasilkan lebih besar. Hal ini bertolak belakang dengan pendapat Gachovska, *et al.*, (2010), yang menyatakan bahwa ketahanan membran sel berkurang disebabkan karena adanya elektroporasi pada dinding/membran sel yang diakibatkan oleh medan listrik dalam memecah sel. Hal tersebut membuat komponen-komponen yang terdapat pada bahan mampu ikut terlarut dengan mudah pada saat proses ekstraksi berlangsung sehingga kadar bahan komponen yang dihasilkan lebih besar. Namun menurut Sukardi. (2016), semakin besar tegangan dan waktu PEF yang dikenakan pada bahan maka kuat medan listrik yang dihasilkan dapat terlalu kuat dan energinya besar. Hal tersebut dapat menyebabkan terjadinya kerusakan dinding sel yang parah dan dapat berdampak terhadap hasil yang diperoleh.

Disamping itu, terlihat pada penerapan tegangan PEF 5kV (T3), penurunan kadar air dari waktu PEF 5 menit (W2) ke waktu PEF 7 menit (W3) cukup besar. Diduga semakin lama waktu yang diberikan pada tegangan tinggi akan semakin membuka pori-pori dinding sel biji pinang sehingga dapat mempermudah perpindahan bahan aktif tanin ke dalam pelarut dan menghasilkan *crude* tanin yang lebih besar serta kadar air yang lebih rendah. Menurut Donsi *et al.* (2010) penggunaan waktu paparan PEF yang lebih lama dapat memicu adanya proses elektroporasi pada membran sel oleh muatan medan listrik yang berakibat terhadap timbulnya kerusakan membran dan pembentukan pori-pori yang semakin melebar sehingga komponen-komponen yang terdapat pada bahan mampu ikut terlarut dengan mudah pada saat proses ekstraksi.

#### 4.1.3 Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dimana nilai aktivitas peredaman radikal bebas dinyatakan dengan nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi, sehingga tingkat kekuatan antioksidan semakin besar. Menurut Jun *et al.* (2003), nilai  $IC_{50} < 50$  ppm mengindikasikan tingkat kekuatan antioksidan dengan intensitas sangat aktif. Nilai  $IC_{50}$  50-100 ppm mengindikasikan tingkat kekuatan antioksidan dengan intensitas aktif. nilai  $IC_{50}$  101-250 ppm mengindikasikan tingkat kekuatan antioksidan dengan intensitas sedang. nilai  $IC_{50}$  251-500 ppm mengindikasikan tingkat kekuatan antioksidan dengan intensitas lemah. Data hasil penelitian aktivitas antioksidan ekstrak tanin biji pinang secara keseluruhan dapat dilihat pada **Lampiran 5**.

Hasil analisis statistik dengan tingkat kepercayaan 95 % ( $\alpha = 0,05$ ) menunjukkan bahwa variabel tegangan PEF tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap nilai  $IC_{50}$  ekstrak tanin biji pinang. Hal ini ditunjukkan dengan nilai *sig* lebih besar dari 0,05. Sementara itu, variabel waktu PEF memberikan pengaruh yang signifikan terhadap nilai  $IC_{50}$  ekstrak tanin biji pinang. Pengaruh yang signifikan menunjukkan bahwa waktu PEF yang meningkat menyebabkan nilai  $IC_{50}$  mengalami peningkatan atau penurunan. Hal ini ditunjukkan dengan nilai *sig* kurang dari 0,05. Hasil koefisien determinasi ( $R^2$ ) menunjukkan nilai sebesar 0,212. Koefisien determinasi diartikan sebagai seberapa besar kemampuan semua variabel bebas dalam menjelaskan varians dari variabel terikatnya. Hal tersebut mengartikan bahwa kemampuan variabel tegangan PEF dan variabel waktu PEF dalam menjelaskan varians dari variabel  $IC_{50}$  adalah sebesar 21,2%. Dapat juga diartikan bahwa variabel tegangan PEF dan variabel waktu PEF memberikan pengaruh secara bersama-sama terhadap variabel  $IC_{50}$  sebesar 21,2%. Diduga karena penetapan jarak antar perlakuan yang terlalu besar pada variabel tegangan PEF dan waktu paparan PEF mengakibatkan perubahan nilai  $IC_{50}$  yang cenderung fluktuatif

sehingga menghasilkan nilai  $R^2$  yang rendah. Menurut Riberio *et al.*, (2008), semakin besar tegangan dan waktu PEF yang dikenakan pada bahan maka semakin tinggi kuat medan listrik yang dihasilkan. Peningkatan kuat medan listrik dan waktu paparan PEF yang diberikan pada bahan berakibat pada peningkatan energi masukan spesifik. Hal tersebut menyebabkan energi yang diterima oleh bahan lebih besar sehingga kerusakan membran yang dihasilkan juga semakin besar. Diduga, hal tersebut dapat menyebabkan rusaknya sebagian bahan aktif tanin yang terdapat dalam biji pinang sehingga *crude* tanin dengan tingkat antioksidan tinggi yang didapatkan lebih sedikit. Berdasarkan hal diatas maka terdapat 68,8% (100%-21,2%) varians variabel  $IC_{50}$  yang dijelaskan atau dipengaruhi oleh faktor lain.

Faktor lain yang dapat mempengaruhi nilai  $IC_{50}$  ekstrak adalah kandungan senyawa dalam ekstrak dan pemanasan. Menurut Peng *et al.* (2015), biji pinang secara umum tergolong sebagai sumber agen antioksidan karena memiliki berbagai metabolit sekunder seperti tanin, flavonoid, alkaloid, dan triterpen yang bersifat antioksidan. Berdasarkan hal tersebut maka diduga ekstrak tanin biji pinang tidak hanya terdiri dari senyawa tanin, melainkan terdapat pula beberapa senyawa polifenol lain yang bersifat antioksidan dapat larut dalam air dan ikut terekstrak. Sehingga nilai  $IC_{50}$  yang dihasilkan tidak hanya dari aktivitas antioksidan senyawa tanin, melainkan dari senyawa-senyawa lain yang bersifat antioksidan juga. Disamping itu, menurut Wicaksono *et al.* (2014), aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh perlakuan pemanasan dimana semakin lama waktu perebusan maka aktivitas antioksidan yang dihasilkan juga semakin rendah. Berdasarkan hal tersebut maka pemanasan yang dilakukan untuk mendapatkan ekstrak terlalu lama, sehingga aktivitas antioksidan ekstrak yang dihasilkan rendah karena senyawa yang bersifat antioksidan sebagian terdegradasi oleh pemanasan.

Persamaan regresi yang dihasilkan ialah sebagai berikut:  $Y = 168,899 + 0,168 X_1 + 3,964 X_2$ , dimana Y adalah variabel  $IC_{50}$ ,  $X_1$  adalah variabel tegangan PEF, dan  $X_2$  adalah variabel waktu PEF. Nilai konstanta sebesar 168,889 mengartikan

bahwa jika variabel tegangan PEF (X1) dan variabel waktu PEF (X2) nilainya adalah 0, maka nilai dari variabel  $IC_{50}$  (Y) adalah sebesar 168,889. Nilai koefisien regresi variabel tegangan PEF (X1) sebesar 0,168 mengartikan bahwa jika variabel independen lain nilainya tetap dan variabel tegangan PEF mengalami kenaikan 1%, maka nilai variabel  $IC_{50}$  akan mengalami peningkatan sebesar 0,168. Nilai koefisien regresi variabel waktu PEF (X2) sebesar 3,964 mengartikan bahwa jika variabel independen lain nilainya tetap dan variabel waktu PEF mengalami kenaikan 1%, maka nilai variabel  $IC_{50}$  akan mengalami peningkatan sebesar 3,964. Hasil analisis statistik dapat dilihat pada **Lampiran 6**.

**Tabel 4.3** Rata-rata nilai  $IC_{50}$  ekstrak tanin biji pinang

Perlakuan	Tegangan PEF (kV)	Waktu paparan PEF (menit)	Rerata nilai $IC_{50}$ (ppm)	Penurunan % <sup>*)</sup>
T1W1	3	3	178,20 ± 1,10	2,62
T1W2	3	5	172,78 ± 4,53	5,58
T1W3	3	7	183,20 ± 14,39	-0,11
T2W1	4	3	174,34 ± 3,83	4,73
T2W2	4	5	171,60 ± 2,61	6,23
T2W3	4	7	179,13 ± 7,49	2,11
T3W1	5	3	173,09 ± 2,34	5,42
T3W2	5	5	175,03 ± 2,68	4,36
T3W3	5	7	187,07 ± 4,70	-2,22
Rata-rata			177,16	3,19
Kontrol (tanpa PEF)			183,00 ± 3,07	

<sup>\*)</sup> dibanding kontrol (tanpa PEF)

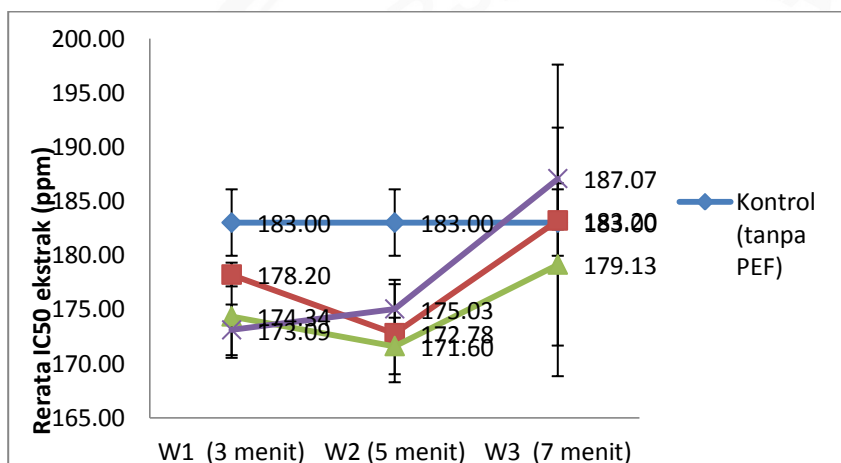
Pada **Tabel 4.3**, nilai  $IC_{50}$  dari semua perlakuan termasuk kontrol (tanpa PEF) tergolong dalam tingkat kekuatan antioksidan dengan intensitas sedang (Jun *et al.*, 2003). Jika dibandingkan dengan nilai  $IC_{50}$  kontrol (tanpa PEF) dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 183,00 ppm, perlakuan PEF memberikan



peningkatan nilai  $IC_{50}$  sebesar 0,11% pada perlakuan tegangan PEF 3 kV dan waktu PEF 7 menit (T1W3) dan 2,22% pada perlakuan tegangan PEF 5 kV dan waktu PEF 7 menit (T3W3). Disamping itu, perlakuan PEF lainnya memberikan penurunan nilai  $IC_{50}$  (antara 2,11% sampai 6,23%) dengan rata-rata penurunan sebesar 3,19%. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Janositz and Knorr (2010), yang menyatakan bahwa perlakuan dengan PEF dapat meningkatkan produksi metabolit sekunder yang berhubungan dengan pengaturan pertahanan hidup sel akibat adanya medan listrik, akumulasi, dan tarik menarik partikel bermuatan pada membran sel yang tidak konduktif sehingga menyebabkan pengurangan ketebalan atau rusaknya membran sel. Rusaknya membran sel akan mempermudah keluarnya senyawa aktif dari dalam sel bahan ke pelarut di sekitarnya saat proses ekstraksi sehingga bahan aktif tanin dengan aktivitas antioksidan tinggi lebih banyak dapat dikeluarkan. Namun, terlihat pada perlakuan tegangan PEF 3 kV dan waktu PEF 7 menit (T1W3) dan tegangan PEF 5 kV dan waktu PEF 7 menit (T3W3), nilai  $IC_{50}$  yang dihasilkan lebih tinggi dibanding dengan kontrol (tanpa PEF) yang menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan yang dihasilkan lebih rendah. Diduga penerapan waktu paparan PEF yang terlalu lama dapat menyebabkan kerusakan yang terlalu tinggi pada membran sel biji pinang dan merusak karakteristik bahan aktif tanin yang ada sehingga aktivitas antioksidan yang dihasilkan semakin rendah.

Pada **Gambar 4.3** terlihat bahwa nilai  $IC_{50}$  ekstrak tanin biji pinang berkisar antara 171,60 ppm – 187,07 ppm. Rerata nilai  $IC_{50}$  tertinggi diperoleh pada perlakuan tegangan PEF 5 kV dan waktu PEF 7 menit (T3W3) yaitu sebesar 187,07 ppm, sedangkan rerata nilai  $IC_{50}$  terendah diperoleh pada perlakuan tegangan PEF 4 kV dan waktu PEF 5 menit (T2W2) yaitu sebesar 171,60 ppm. Kecenderungan perubahan grafik yang ditunjukkan pada penerapan tegangan PEF 3kV (T1) dan 4kV (T2) ialah sama, yakni pada waktu PEF 3 menit (W1) nilai  $IC_{50}$  yang dihasilkan cenderung tinggi. Pada waktu PEF 5 menit (W2), nilai  $IC_{50}$  akan mengalami penurunan lalu kemudian akan meningkat kembali pada waktu PEF 7 menit (W3). Diduga pada waktu PEF 3 menit (W1), waktu paparan PEF yang diberikan

belum sepenuhnya membuka pori-pori dinding sel. Hal ini mengakibatkan *crude* tanin yang dihasilkan lebih sedikit sehingga tingkat kekuatan antioksidan yg dihasilkan lebih rendah. Lalu diduga pada waktu PEF 5 menit (W2), waktu kejutan listrik PEF yang diberikan sudah dapat membuka pori-pori dinding sel biji pinang sehingga dapat mempermudah perpindahan bahan aktif tanin ke dalam pelarut. Hal ini mengakibatkan *crude* tanin yang dihasilkan lebih banyak sehingga tingkat kekuatan antioksidan yang dihasilkan lebih tinggi. Sedangkan pada waktu PEF 7 menit (W3), diduga penerapan waktu kejutan listrik PEF yang terlalu lama dapat mengakibatkan rusaknya sebagian kandungan bahan aktif tanin, sehingga *crude* tanin yang dihasilkan lebih sedikit dan tingkat kekuatan antioksidan yang dihasilkan lebih rendah. Hal ini bertolak belakang dengan pendapat Wijngaard *et al.*, (2012), yang menyatakan bahwa medan listrik dan waktu paparan PEF yang dikenakan pada bahan akan menyebabkan stress pada membran/dinding sel sehingga menimbulkan terjadinya perubahan pori. Semakin besar medan listrik dan waktu paparan PEF yang dikenakan maka ketahanan membran sel akan semakin berkurang sehingga komponen-komponen yang terdapat pada bahan mampu ikut terlarut dengan mudah.



**Gambar 4.3** Grafik rata-rata nilai  $IC_{50}$  ekstrak tanin biji pinang



Disamping itu, terlihat pada penerapan tegangan PEF 5kV (T3), grafik nilai  $IC_{50}$  meningkat seiring dengan meningkatnya waktu PEF. Diduga penerapan waktu kejutan listrik PEF yang terlalu lama dapat mengakibatkan rusaknya sebagian kandungan bahan aktif tanin, sehingga *crude* tanin yang dihasilkan lebih sedikit dan tingkat kekuatan antioksidan yang dihasilkan lebih rendah. Menurut Ismarani (2012), tanin mempunyai berat molekul tinggi dan cenderung mudah dioksidasi menjadi suatu polimer. Tanin mudah teroksidasi baik melalui udara ataupun saat terkena air panas. Semakin lama waktu paparan PEF yang diberikan maka semakin besar kerusakan membran yang terjadi sehingga permeabilitas sel terlalu tinggi. Hal tersebut mengakibatkan bahan aktif tanin mudah keluar dan kontak dengan udara sehingga menyebabkan sebagian bahan aktif tanin dapat teroksidasi.

#### 4.1.4 Kadar Tanin

Kadar tanin adalah jumlah mg tanin ekivalen terhadap asam galat setiap gramnya (mg Galat Acid Equivalent / g) yang dihasilkan dari proses ekstraksi serbuk biji pinang. Menurut Sulastri (2009), kadar tanin yang terdapat pada biji pinang sirih memiliki kandungan yang berbeda-beda pada suatu wilayah atau daerah, hal ini disebabkan oleh faktor keadaan iklim (suhu, cuaca dan curah hujan) dan faktor lingkungan (jenis tanah, kesuburan tanah, ketinggian tempat tumbuh dan pemeliharaan tanaman). Data hasil penelitian kadar tanin (mg GAE / g) ekstrak biji pinang secara keseluruhan dapat dilihat pada **Lampiran 7**.

Hasil analisis statistik dengan tingkat kepercayaan 95 % ( $\alpha = 0,05$ ) menunjukkan bahwa variabel tegangan PEF dan variabel waktu PEF baik secara masing-masing maupun bersama-sama tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar tanin ekstrak tanin biji pinang. Hal ini ditunjukkan dengan nilai *sig* lebih besar dari 0,05. Namun, hasil koefisien determinasi ( $R^2$ ) menunjukkan nilai sebesar 0,078. Koefisien determinasi diartikan sebagai seberapa besar kemampuan semua variabel bebas dalam menjelaskan varians dari variabel terikatnya. Hal tersebut mengartikan bahwa kemampuan

variabel tegangan PEF dan variabel waktu PEF dalam menjelaskan varians dari variabel kadar tanin adalah sebesar 7,8%. Dapat juga diartikan bahwa variabel tegangan PEF dan variabel waktu PEF memberikan pengaruh secara bersama-sama terhadap variabel kadar tanin sebesar 7,8%. Diduga karena penetapan jarak antar perlakuan yang terlalu besar pada variabel tegangan PEF dan waktu paparan PEF mengakibatkan perubahan nilai kadar tanin yang cenderung fluktuatif sehingga menghasilkan nilai  $R^2$  yang rendah. Menurut Ersus dan Barrett (2010), kuat medan listrik yang dihasilkan akan meningkat seiring dengan semakin besarnya tegangan dan waktu PEF yang dikenakan pada bahan. Peningkatan kuat medan listrik yang diberikan pada bahan berakibat pada peningkatan jumlah sel yang pecah. Dilaporkan sebanyak 92,2% dari sel tanaman bawang pecah setelah penerapan medan listrik sebesar 333 V/cm. Hal tersebut menjelaskan bahwa semakin besar medan listrik yang diterapkan maka kerusakan yang terjadi pada membran/dinding sel akan semakin besar pula dikarenakan ion-ion didalam dan diluar sel mengalami perubahan konsentrasi karena perubahan kondisi lingkungan yang disebabkan oleh medan listrik. Perubahan konsentrasi ion melalui peristiwa pintu tegangan kanal ion berakibat terhadap terjadinya perubahan porositas membran sel. Berdasarkan hal diatas, diduga penerapan kuat medan listrik yang terlalu tinggi dapat menyebabkan rusaknya sebagian bahan aktif tanin yang terdapat dalam biji pinang sehingga *crude* tanin yang didapatkan lebih sedikit. Berdasarkan hal tersebut maka terdapat 92,2% ( $100\% - 7,8\%$ ) varians variabel kadar tanin yang dijelaskan atau dipengaruhi oleh faktor lain.

Faktor lain yang dapat mempengaruhi variabel rendemen diantaranya ialah faktor pengecilan ukuran dan ekstraksi. Pengecilan ukuran adalah suatu proses mengurangi massa dari suatu bahan padatan yang besar menjadi ukuran yang lebih kecil. Menurut Sushant and Kamath (2013), pengecilan ukuran akan menambah luas permukaan suatu bahan menjadi lebih besar sehingga mempermudah proses pengolahan lanjutan dari bahan tersebut. Diduga bahwa pengecilan ukuran bahan sebesar 60 mesh yang dilakukan sudah dapat membuka atau

merusak dinding sel bahan, sehingga perlakuan PEF yang diberikan terhadap bahan tidak terlalu berpengaruh terhadap kadar tanin dan bahkan dapat merusak bagian dalam sel dikarenakan dinding sel yang sudah rusak terlebih dahulu, sehingga sebagian bahan aktif tanin yang terdapat didalam sel juga dapat rusak. Selain itu, faktor lain yang dapat mempengaruhi variabel kadar tanin ialah faktor ekstraksi seperti waktu ekstraksi, suhu ekstraksi, dan rasio pelarut. Menurut Maslukhah dkk. (2016), semakin lama waktu ekstraksi yaitu waktu kontak antara pelarut dan bahan, kesempatan untuk bersentuhan semakin besar maka hasil ekstrak juga bertambah sampai titik jenuh larutan. Akan tetapi ekstraksi yang terlalu lama juga dapat berdampak negatif pada hasil ekstrak. Hal ini dikarenakan waktu ekstraksi yang terlalu lama akan memicu pemaparan oksigen lebih banyak yang akan meningkatkan peluang terjadinya oksidasi senyawa fenolik. Berdasarkan hal tersebut, diduga bahwa penerapan waktu ekstraksi yang dilakukan selama 2 jam terlalu lama sehingga dapat mengoksidasi beberapa senyawa fenolik yang terdapat dalam bahan, termasuk tanin. Disamping itu, ekstraksi juga akan lebih cepat dilakukan pada suhu tinggi, tetapi hal ini dapat mengakibatkan beberapa komponen yang terdapat dalam bahan akan mengalami kerusakan. Suhu tinggi pelarut dapat meningkatkan efisiensi dari proses ekstraksi karena panas dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel, meningkatkan kelarutan dan difusi dari senyawa yang diekstrak, dan mengurangi viskositas pelarut, namun suhu tinggi juga dapat mendegradasi senyawa polifenol. Berdasarkan hal tersebut, diduga bahwa penerapan suhu ekstraksi sebesar 60 °C dapat mendegradasi atau merusak beberapa senyawa polifenol yang terdapat dalam bahan, termasuk tanin. Lalu, dikatakan pula bahwa berdasarkan rasio pelarut, semakin banyak jumlah pelarut yang digunakan, maka semakin banyak pula hasil yang didapatkan, karena distribusi partikel dalam pelarut semakin menyebar, sehingga memperluas permukaan kontak. Berdasarkan hal tersebut, diduga bahwa penerapan rasio pelarut 1:4 (bahan 50 gr: pelarut 200 ml) terlalu kecil sehingga tercapai titik jenuh larutan, yakni suatu titik ketika penambahan

partikel terlarut sudah tidak dapat menyebabkan partikel tersebut melarut. Hal tersebut mengakibatkan senyawa tanin yang terdapat dalam bahan sudah tidak dapat lagi terekstrak, sehingga kadar tanin yang dihasilkan rendah.

Disamping itu, persamaan regresi yang dihasilkan ialah sebagai berikut:  $Y = 584,322 - 18,786 X_1 - 7,903 X_2$ , dimana Y adalah variabel kadar tanin,  $X_1$  adalah variabel tegangan PEF, dan  $X_2$  adalah variabel waktu PEF. Nilai konstanta sebesar 584,322 mengartikan bahwa jika variabel tegangan PEF ( $X_1$ ) dan variabel waktu PEF ( $X_2$ ) nilainya adalah 0, maka nilai dari variabel kadar air (Y) adalah sebesar 584,322. Nilai koefisien regresi variabel tegangan PEF ( $X_1$ ) sebesar - 18,786 mengartikan bahwa jika variabel independen lain nilainya tetap dan variabel tegangan PEF mengalami kenaikan 1%, maka nilai variabel kadar tanin akan mengalami penurunan sebesar 18,786. Nilai koefisien regresi variabel waktu PEF ( $X_2$ ) sebesar - 7,903 mengartikan bahwa jika variabel independen lain nilainya tetap dan variabel waktu PEF mengalami kenaikan 1%, maka nilai variabel kadar tanin akan mengalami penurunan sebesar 7,903. Hasil analisis statistik dapat dilihat pada **Lampiran 8**.

Pada **Tabel 4.4**, Jika dibandingkan dengan nilai kadar tanin kontrol (tanpa PEF) dengan nilai kadar tanin sebesar 500,55 mg GAE/g, perlakuan PEF memberikan penurunan nilai kadar tanin sebesar 2,06% pada perlakuan tegangan PEF 5 kV dan waktu PEF 5 menit (T3W2). Disamping itu, perlakuan PEF lainnya memberikan peningkatan nilai kadar tanin (antara 3,16% sampai 14,14%) dengan rata-rata peningkatan sebesar 6,07%. Terlihat pada perlakuan tegangan PEF 5 kV dan waktu PEF 5 menit (T3W2), nilai kadar tanin yang dihasilkan lebih rendah dibanding dengan kontrol. Diduga penerapan tegangan PEF yang tinggi dan waktu paparan PEF yang lama dapat menyebabkan kerusakan membran sel serta peningkatan permeabilitas sel yang terlalu tinggi serta dapat merusak sebagian bahan aktif tanin yang ada sehingga kadar tanin yang dihasilkan semakin rendah.

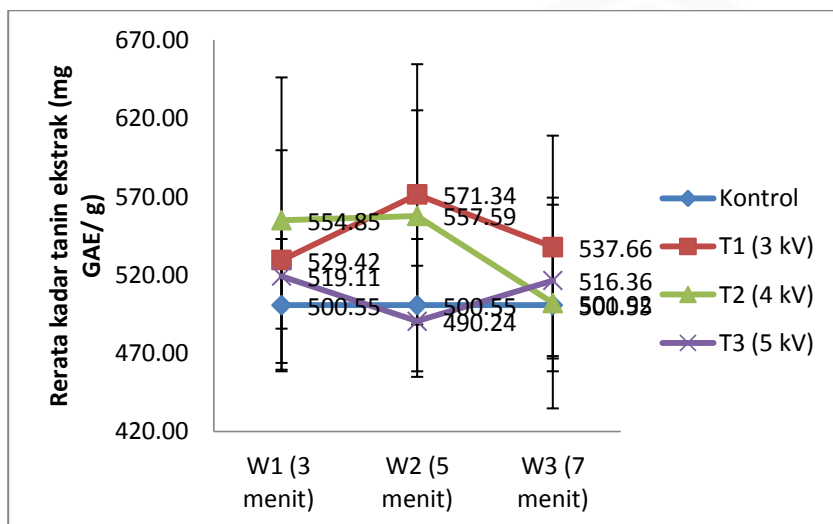
**Tabel 4.4** Rata-rata nilai kadar tanin ekstrak tanin biji pinang

Perlakuan	Tegangan PEF (kV)	Waktu paparan PEF (menit)	Rerata nilai kadar tanin (mg GAE/g)	Peningkatan % <sup>1)</sup>
T1W1	3	3	529,42 ± 70,11	5,77
T1W2	3	5	571,34 ± 83,17	14,14
T1W3	3	7	537,66 ± 71,20	7,41
T2W1	4	3	554,85 ± 91,21	10,85
T2W2	4	5	557,59 ± 67,46	11,40
T2W3	4	7	501,92 ± 67,33	0,27
T3W1	5	3	519,11 ± 33,59	3,71
T3W2	5	5	490,24 ± 35,49	-2,06
T3W3	5	7	516,36 ± 48,37	3,16
Rata-rata			530,94	6,07
Kontrol (tanpa PEF)			500,55 ± 42,27	

<sup>1)</sup> dibanding kontrol (tanpa PEF)

Pada **Gambar 4.4** terlihat bahwa nilai kadar tanin ekstrak biji pinang berkisar antara 490,24 mg GAE / g – 571,34 mg GAE / g. Rerata nilai kadar tanin tertinggi diperoleh pada perlakuan tegangan PEF 3 kV dan waktu PEF 5 menit (T1W2) yaitu sebesar 571,34 mg GAE / g, sedangkan rerata nilai kadar tanin terendah diperoleh pada perlakuan tegangan PEF 5 kV dan waktu PEF 5 menit (T3W2) yaitu sebesar 490,24 mg GAE / g. Kecenderungan perubahan grafik yang ditunjukkan pada penerapan tegangan PEF 3kV (T1) dan 4kV (T2) ialah sama, yakni pada waktu PEF 3 menit (W1) nilai kadar tanin yang dihasilkan cenderung rendah. Pada waktu PEF 5 menit (W2), nilai kadar tanin akan mengalami peningkatan lalu kemudian menurun kembali pada waktu PEF 7 menit (W3). Diduga pada waktu PEF 3 menit (W1), waktu paparan PEF yang diberikan belum sepenuhnya membuka pori-pori dinding sel. Hal ini mengakibatkan *crude* tanin yang dihasilkan lebih sedikit sehingga kadar tanin yg dihasilkan lebih rendah. Lalu diduga pada waktu PEF 5 menit (W2), waktu kejutan listrik PEF yang

diberikan sudah dapat membuka pori-pori dinding sel biji pinang sehingga dapat mempermudah perpindahan bahan aktif tanin ke dalam pelarut. Hal ini mengakibatkan *crude* tanin yang dihasilkan lebih banyak sehingga kadar tanin yang dihasilkan lebih tinggi. Sedangkan pada waktu PEF 7 menit (W3), diduga penerapan waktu kejutan listrik PEF yang terlalu lama dapat mengakibatkan rusaknya sebagian kandungan bahan aktif tanin, sehingga *crude* tanin yang dihasilkan lebih sedikit dan kadar tanin yang dihasilkan lebih rendah. Hal ini bertolak belakang dengan pendapat Donsi *et al.* (2010), yang menyatakan bahwa semakin lama paparan waktu PEF yang digunakan, maka ketahanan membran sel akan semakin berkurang dan pori-pori yang terbentuk akan semakin melebar sehingga komponen-komponen yang terdapat pada bahan mampu ikut terlarut dengan mudah.



**Gambar 4.4** Grafik rata-rata nilai kadar tanin ekstrak tanin biji pinang

Disamping itu, terlihat pada penerapan tegangan PEF 5kV (T3), grafik nilai kadar tanin cenderung menurun pada waktu PEF 5 menit (W2) dan kembali meningkat pada waktu PEF 7 menit (W3). Diduga pada waktu PEF 5 menit (W2), penerapan tegangan PEF yang tinggi dan waktu paparan PEF yang lama

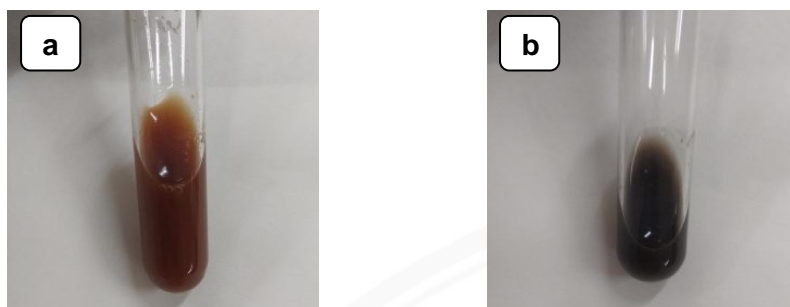
dapat menyebabkan kerusakan membran sel serta peningkatan permeabilitas sel yang terlalu tinggi namun belum dapat membuka pori-pori dinding sel sepenuhnya sehingga dapat merusak dan belum bisa mengeluarkan sebagian bahan aktif tanin yang ada sehingga kadar tanin yang dihasilkan semakin rendah. Sedangkan pada waktu PEF 7 menit (W3), penerapan tegangan PEF yang tinggi dan waktu paparan PEF yang lebih lama dapat menyebabkan kerusakan membran sel namun sudah dapat membuka pori-pori dinding sel lebih baik sehingga dapat mengeluarkan sebagian bahan aktif tanin yang ada dan menghasilkan kadar tanin yang lebih tinggi. Hal ini sesuai dengan Alberts (1994), yang menyatakan bahwa penggunaan tegangan PEF tinggi dan waktu PEF yang lebih lama dapat memicu adanya kerusakan membran seperti pembentukan pori-pori yang semakin melebar dan tidak mampu diperbaiki lagi sehingga memungkinkan keluar masuknya senyawa makromolekul dari sel dan menghasilkan kadar tanin yang semakin tinggi.

#### 4.1.5 Kualitatif Tanin

Uji kualitatif tanin dengan menggunakan  $\text{FeCl}_3$  digunakan untuk menentukan apakah sampel mengandung gugus fenol. Adanya gugus fenol ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tua setelah ditambahkan dengan  $\text{FeCl}_3$ , sehingga apabila uji kualitatif dengan  $\text{FeCl}_3$  memberikan hasil positif dimungkinkan dalam sampel terdapat senyawa fenol dan dimungkinkan salah satunya adalah tanin karena tanin merupakan senyawa polifenol. Hal ini diperkuat oleh Harborne (1987), yang menyatakan bahwa cara klasik untuk mendeteksi senyawa fenol yaitu menambahkan ekstrak dengan larutan  $\text{FeCl}_3$  1% dalam air, yang menimbulkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat. Menurut Amelia (2015), dalam melakukan identifikasi tanin, ekstrak yang ditambah dengan  $\text{FeCl}_3$  akan memberikan endapan biru-hitam pada tanin terhidrolisis dan memberikan endapan hitam kehijauan pada tanin terkondensasi. Untuk membedakan tanin katekol dan tanin galat, larutan ekstrak ditambah dengan pereaksi Stiasny (Formaldehid 30% - HCl (2:1)) dan dipanaskan diatas penangas



air sambil digoyang-goyangkan. Bila terjadi endapan merah, menunjukkan adanya tanin katekol. Endapan yang terbentuk disaring kemudian filtrat dinetralkan dengan Natrium Asetat. Dengan penambahan  $\text{FeCl}_3$  1 % pada filtrat akan terbentuk warna biru tinta atau hitam yang menunjukkan adanya tanin galat. Gambar pengujian hasil kualitatif tanin sebelum dan setelah diuji dapat dilihat pada **Gambar 4.5**. Gambar pengujian hasil kualitatif tanin secara keseluruhan dapat dilihat pada **Lampiran 9**.



**Gambar 4.5** Hasil uji kualitatif tanin (a. sebelum diuji; b. setelah diuji)

**Tabel 4.5** Kualitatif tanin ekstrak tanin biji pinang

Perlakuan	Tegangan PEF (kV)	Waktu paparan PEF (menit)	Hasil uji kualitatif
T1W1	3	3	+ (hitam)
T1W2	3	5	+ (hitam)
T1W3	3	7	+ (hitam)
T2W1	4	3	+ (hitam)
T2W2	4	5	+ (hitam)
T2W3	4	7	+ (hitam)
T3W1	5	3	+ (hitam)
T3W2	5	5	+ (hitam)
T3W3	5	7	+ (hitam)
Kontrol			+ (hitam)



Pada **Tabel 4.5**, terlihat bahwa semua perlakuan dan kontrol memberikan hasil positif yang menunjukkan bahwa ekstrak biji pinang mengandung tanin. Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak biji pinang yang ditambah dengan  $\text{FeCl}_3$  menghasilkan warna hitam. Hal tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi tanin yang terkandung dalam biji pinang kuat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Harborne (1987) dan Amelia (2015) yang menyatakan bahwa penambahan  $\text{FeCl}_3$  pada larutan ekstrak akan memberikan warna hitam yang menunjukkan bahwa ekstrak teridentifikasi mengandung senyawa tanin.

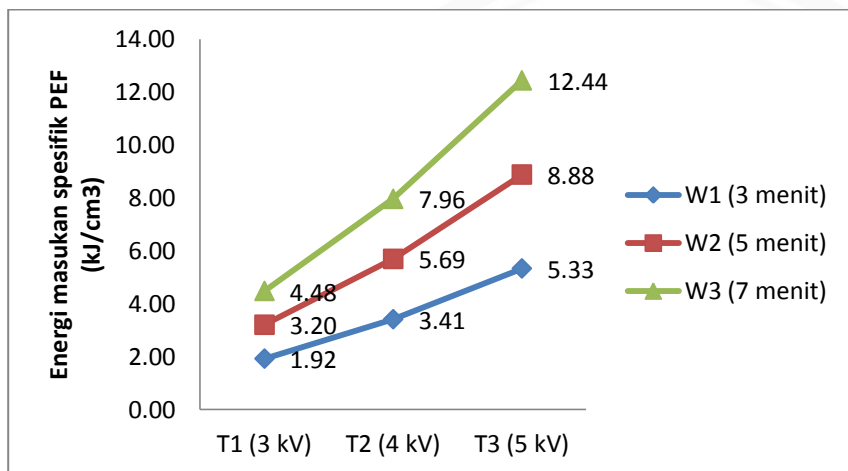
#### 4.2 Energi Masukan Spesifik PEF ( $W_{\text{PEF}}$ )

Pada prosesnya, PEF menggunakan tegangan listrik 220-240 volt dan daya 300 watt yang memungkinkan luaran tegangan dari alat PEF dapat meningkat sampai 10.000 volt, sehingga energi listrik juga dapat meningkat. Energi listrik adalah kemampuan untuk melakukan atau menghasilkan usaha listrik (memindahkan muatan dari satu titik ke titik yang lain). Energi listrik pada *pretreatment* menggunakan PEF dapat dianalisa menggunakan perhitungan energi masukan spesifik. Energi masukan spesifik PEF merupakan suatu energi yang dibutuhkan tiap satuan volume bahan selama proses PEF yang dinyatakan dalam satuan  $\text{kJ/cm}^3$ . Besarnya energi masukan spesifik PEF pada penelitian ini dihitung berdasarkan persamaan (4). Adapun rincian perhitungan energi masukan spesifik dapat dilihat pada **Lampiran 10**.

Berdasarkan **Tabel 4.6** terlihat bahwa besarnya energi masukan spesifik PEF meningkat seiring dengan meningkatnya tegangan PEF dan waktu PEF yang diberikan. Hal ini sesuai dengan pendapat Srisuhartatik (2012), yang menyatakan bahwa pertambahan waktu kejutan PEF yang diberikan akan diikuti dengan besarnya kebutuhan energi.

**Tabel 4.6** Energi masukan spesifik PEF setiap perlakuan

Perlakuan	Tegangan PEF (kV)	Waktu paparan PEF (menit)	W PEF (kJ/cm <sup>3</sup> )
T1W1	3	3	1,92
T1W2	3	5	3,20
T1W3	3	7	4,48
T2W1	4	3	3,41
T2W2	4	5	5,69
T2W3	4	7	7,96
T3W1	5	3	5,33
T3W2	5	5	8,88
T3W3	5	7	12,44
Kontrol			0

**Gambar 4.6** Grafik besar energi masukan spesifik PEF

Pada **Gambar 4.6** terlihat bahwa kebutuhan energi masukan spesifik PEF ekstrak biji pinang berkisar antara 1,92 kJ/cm<sup>3</sup> – 12,44 kJ/cm<sup>3</sup>. Energi masukan spesifik PEF terendah terdapat pada perlakuan tegangan PEF 3 kV dan waktu PEF 3 menit (T1W1) yaitu sebesar 1,92 kJ/cm<sup>3</sup>, sedangkan energi

masukan spesifik yang tertinggi terdapat pada perlakuan tegangan PEF 5 kV dan waktu PEF 7 menit (T3W3) yaitu sebesar 12,44 kJ/cm<sup>3</sup>. Hal ini menunjukkan bahwa energi yang diberikan pada perlakuan tegangan PEF 5 kV dan waktu PEF 7 menit (T3W3) ialah sebesar 12,44 kJ untuk setiap satu cm<sup>3</sup>. Menurut Nieto *et al.* (2003), semakin besar tegangan yang dilewatkan maka nilai kuat medan listrik yang dihasilkan semakin besar, sehingga energi yang diterima bahan juga akan semakin besar. Hal-hal tersebut didukung oleh Putri dkk. (2009), yang menyatakan bahwa pada proses pembuatan sari buah apel menggunakan aplikasi pembangkit pulsa tegangan tinggi, semakin lama waktu pengolahan PEF maka total mikroba yang dikandung juga semakin turun tetapi energi spesifik masukan yang dibutuhkan akan meningkat.

Berdasarkan hasil analisa statistik pada **Lampiran 11**, diketahui bahwa besar energi masukan spesifik PEF tidak berpengaruh nyata terhadap rendemen, kadar air, aktivitas antioksidan, dan kadar tanin ekstrak biji pinang. Hal ini ditunjukkan dengan nilai *sig* lebih besar dari 0,05. Hal tersebut menandakan bahwa adanya peningkatan besar energi masukan spesifik PEF tidak berpengaruh signifikan terhadap nilai parameter dari ekstrak biji pinang.

**Tabel 4.7** Hubungan energi masukan spesifik PEF terhadap karakterisasi ekstrak tanin biji pinang

WPEF (kJ/cm <sup>3</sup> )	Rendemen (%)	Kadar Air (%)	IC <sub>50</sub> (ppm)	Kadar Tanin (mg GAE/g)
1.92	6,85 ± 1,40	7,67 ± 2,97	178,20 ± 1,10	529,42 ± 70,11
3.20	6,38 ± 0,66	4,52 ± 3,10	172,78 ± 4,53	571,34 ± 83,17
4.48	6,70 ± 0,18	5,28 ± 0,57	183,20 ± 14,39	537,66 ± 71,20
3.41	7,87 ± 0,70	8,16 ± 3,74	174,34 ± 3,83	554,85 ± 91,21
5.69	7,54 ± 0,55	5,97 ± 5,59	171,60 ± 2,61	557,59 ± 67,46
7.96	7,54 ± 1,65	8,01 ± 1,86	179,13 ± 7,49	501,92 ± 67,33
5.33	7,11 ± 0,60	5,95 ± 4,16	173,09 ± 2,34	519,11 ± 33,59
8.88	7,26 ± 0,50	6,80 ± 5,77	175,03 ± 2,68	490,24 ± 35,49
12.44	6,27 ± 0,45	4,43 ± 1,27	187,07 ± 4,70	516,36 ± 48,37

Pada **Tabel 4.7**, terlihat bahwa semakin besar energi masukan spesifik PEF maka nilai rendemen, kadar air,  $IC_{50}$ , dan kadar tanin yang dihasilkan dari ekstrak biji pinang cenderung konstan. Hal tersebut bertolak belakang dengan penelitian yang dilakukan oleh Putri dkk. (2009), yang menyatakan bahwa semakin lama waktu paparan PEF maka total mikroba yang dikandung akan semakin turun dan energi spesifik masukan yang dibutuhkan akan meningkat. Turunnya total mikroba yang dikandung mengindikasikan kualitas yang semakin bagus. Diduga karena bahan yang digunakan merupakan bagian biji maka kebutuhan energi yang diperlukan lebih besar agar mampu membuka pori-pori membran yang lebih lebar sehingga berpengaruh terhadap kuantitas dan kualitas dari ekstrak tanin biji pinang. Menurut Srisuhartatik (2012), kebutuhan energi masukan spesifik pada penelitian proses pasteurisasi sari buah jeruk Pontianak menggunakan PEF berkisar antara 2.646 – 166.729.7 J/cm<sup>3</sup>, dimana penambahan waktu kejut diikuti dengan besarnya kebutuhan energi.

#### 4.3 Perlakuan Terbaik Penelitian

Pemilihan perlakuan terbaik dilakukan menggunakan metode *Multiple Attribute* (Zeleny, 1982). Perlakuan terbaik didapatkan dari pengolahan data pada masing-masing parameter seperti rendemen, kadar air,  $IC_{50}$ , kadar tanin, dan energi masukan spesifik PEF. Dari semua nilai rata-rata parameter ekstrak tanin biji pinang, ditentukan nilai idealnya yang kemudian diolah sesuai prosedur sampai diperoleh perlakuan terbaik. Nilai ideal adalah nilai yang sesuai dengan pengharapan yaitu nilai maksimal atau minimal dari suatu parameter. Asumsi nilai ideal dapat dilihat pada **Tabel 4.8**. Untuk parameter dengan rerata semakin tinggi semakin baik, maka nilai terendah sebagai nilai terburuk. Berikut nilai ideal parameter pada penelitian ini.

Nilai ideal pada rendemen dipilih yang tertinggi dikarenakan semakin tinggi rendemen yang dihasilkan maka semakin banyak hasil ekstrak yang didapat sehingga efisiensi proses meningkat. Nilai ideal pada kadar air dipilih yang

terendah dikarenakan semakin rendah nilai kadar air maka kualitas ekstrak tanin biji pinang yang dihasilkan semakin baik karena kandungan air lebih sedikit. Nilai ideal pada  $IC_{50}$  dipilih yang terendah dikarenakan semakin rendah nilai  $IC_{50}$  maka semakin baik aktivitas antioksidannya. Nilai ideal pada kadar tanin dipilih yang tertinggi dikarenakan semakin tinggi nilai kadar tanin maka kualitas ekstrak tanin biji pinang yang dihasilkan semakin baik karena *crude* tanin yang dihasilkan lebih banyak. Nilai ideal pada Energi spesifik PEF dipilih yang terendah dikarenakan semakin rendah nilai Energi spesifik PEF maka semakin rendah biayanya.

**Tabel 4.8** Asumsi nilai ideal

Parameter	Asumsi nilai ideal
Rendemen	Tertinggi
Kadar Air	Terendah
$IC_{50}$	Terendah
Kadar Tanin	Tertinggi
Energi Spesifik PEF	Terendah

Berdasarkan perhitungan perlakuan terbaik pada **Lampiran 12**, diketahui bahwa perlakuan terbaik penelitian adalah perlakuan dengan tegangan PEF 3 kV dan waktu PEF 5 menit (T1W2). Adapun karakterisasi perlakuan terbaik penelitian dapat dilihat pada **Tabel 4.9**.

**Tabel 4.9** Karakterisasi perlakuan terbaik ekstrak tanin biji pinang

Parameter	Nilai
Rendemen	6,38%
Kadar Air	4,52%
$IC_{50}$	172,78 ppm
Kadar Tanin	571,34 mg GAE/g
Energi Spesifik PEF	3,20 kJ/cm <sup>3</sup>

#### 4.4 Fourier Transform InfraRed

Spektrum radiasi elektromagnetik digunakan untuk menganalisis spesies kimia yang terdapat pada suatu bahan dan menelaah interaksinya dengan menggunakan radiasi

elektromagnetik. Spektrum FTIR dari tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi dapat dilihat pada **Lampiran 13**. Menurut Sastrohamidjojo (1991), senyawa tanin jika dianalisis dengan spektrofotometri inframerah akan mempunyai serapan yang spesifik, yaitu serapan di daerah frekuensi  $3150\text{-}3050\text{ cm}^{-1}$  dengan intensitas tajam akibat rentangan C-H aromatik, serapan lebar antara  $3500\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$  akibat rentangan O-H, C=O keton pada  $1725\text{-}1705\text{ cm}^{-1}$  dan C-O eter pada  $1300\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ . Disamping itu, senyawa aromatik mempunyai empat puncak serapan di daerah frekuensi  $1450\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ , namun belum tentu keempat-empatnya muncul (Noerdin, 1986). Hasil uji FTIR pada biji pinang perlakuan terbaik (tegangan PEF 3kV dan waktu PEF 5 menit), kontrol (tanpa PEF), dan contoh ekstrak biji pinang (Syarief, 2015) dapat dilihat pada **Lampiran 13**.

**Tabel 4.10** spectra FTIR ekstrak tanin biji pinang dan standar tanin

Bilangan gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ )						
Puncak	Ekstrak biji pinang (T1W2)	Ekstrak biji pinang (a)	tanin terhidrolisis (b)	tanin terkondensasi (c)	Ekstrak biji pinang (kontrol)	standar serapan absorptansi inframerah (d)
1	3310,38	3425	3414; 3377	3351	3260,24	3550-3200; (O-H) Alkohol, fenol 3100-3500 (N-H) Amida, amina primer dan sekunder
2	2943,93; 2737,56	2939	—	2934	2978,65; 2938,15	3000-2850 (C-H) Alkana
3	1709,58; 1445,35	1450	1716 ;1454	1460	1703,17; 1443,42	1700-1000; (-CH <sub>2</sub> -) 1700-1400 (C=C) Aromatik
4	1609,28; 1520,56	1620; 1528	1616; 1512	1629; 1607	1609,28; 1522,49	1640-1550; Amina 1600-1500 (N-O, Nitro, C-X)
5	1385,56	1389	1226	1371	1379,77	1400-1000 Flourida
6	1285,27; 1254,41; 1208,12; 1111,68; 1061,54	1288; 1111	1226	1238; 1181; 1078	1285,27; 1254,41; 1206,19; 1109,76; 1061,54	1300-1000 (C-O, -O-) Alkohol, eter, ester, asam karboksilat
7	932,32; 880,24; 822,38	—	—	—	882,17; 822,38	1000-700 Aromatik
8	766,45; 619,87	771; 617	—	—	768,38; 722,09; 670,02; 617,94	800-600 Klorida
9	—	532; 486	—	—	506,08	<600 Bromida, Iodida

Keterangan: a. (Syarief, 2015); b. (Al-Mosawe dan Al-Saadi, 2012); c. (Ramos-Tejada *et al.*2002); d. (Syarief, 2015)

Pada **Tabel 4.10**, terlihat bahwa biji pinang dengan perlakuan tegangan PEF 3 kV dan waktu PEF 5 menit (T1W2) serta kontrol (tanpa PEF) mengandung tanin dengan jenis tanin terkondensasi. Hal tersebut diketahui dari puncak serapan yang muncul hampir sama dengan puncak serapan pada standar tanin terkondensasi. Gugus hidroksil alkohol dan fenol pada tanin ekstrak biji pinang dengan perlakuan tegangan PEF 3 kV dan waktu PEF 5 menit (T1W2) serta kontrol (tanpa PEF) terlihat pada puncak serapan  $3310,28\text{ cm}^{-1}$  dan  $3260,24\text{ cm}^{-1}$ . Hal ini diperkuat dengan hasil penelitian dari Syarief (2015) yang menyatakan bahwa biji pinang mengandung tanin dengan jenis tanin terkondensasi. Hal tersebut diketahui dari *peak* yang muncul yaitu gugus hidroksil alkohol, fenol pada tanin biji pinang terdapat pada puncak serapan  $3425\text{ cm}^{-1}$ , sedangkan C=C aromatik terdapat pada puncak serapan  $1528\text{ cm}^{-1}$  dan  $1450\text{ cm}^{-1}$ , gugus karboksil dan hidroksil lainnya terdapat pada  $1288\text{ cm}^{-1}$  dan  $1111\text{ cm}^{-1}$ .

Disamping itu, terlihat bahwa biji pinang dengan perlakuan tegangan PEF 3 kV dan waktu PEF 5 menit (T1W2) serta kontrol (tanpa PEF) sama-sama mengandung gugus fungsi klorida. Hal tersebut terlihat pada puncak serapan 800-600. Menurut Behrman and Arvin (1996), klorida merupakan anion utama cairan ekstraseluler. Sebagian besar klorida terletak di ekstraseluler dan sebagian kecil berada di intraseluler. Rendahnya konsentrasi klorida di dalam sel diatur oleh dua mekanisme membran sel aktif. Pertukaran bikarbonat-klorida timbal balik (respirokal) sensitive terhadap perubahan pH intraseluler. Bila pH intraseluler meningkat, bikarbonat sel bertukar dengan klorida ekstraseluler, mengembalikan pH ke normal. Pengeluaran klorida dari sel terutama dicapai dengan tingginya gradien kalium antar kedua belah sisi membran sel. Potensial membran, yang ditimbulkan oleh tingginya konsentrasi kalium intraseluler, juga mengeluarkan klorida secara pasif melalui kanal transport selektif anion atau ko-transpor kalium-klorida aktif. Kanal anion adalah pori-pori mengandung protein di membran biologis yang membantu penyebaran ion-ion bermuatan negatif secara pasif di sepanjang gradien elektrokimianya. Fungsi kanal  $\text{Cl}^-$  dalam sel adalah untuk



regulasi volume dan homeostasis ionik, transport transepithelial, dan regulasi eksitabilitas elektrik. Beberapa jenis kanal  $\text{Cl}^-$  dapat diaktivasi oleh kekuatan mekanik mengakibatkan sel membengkak sehingga kanal terbuka. Pada pembukaan kanal  $\text{Cl}^-$ , ion  $\text{Cl}^-$  masuk ke dalam sel lalu terjadi hiperpolarisasi (bagian dalam sel menjadi lebih negatif). Lalu sebagian ion  $\text{Cl}^-$  keluar sel diikuti oleh kation dan air sehingga sel mengempis kembali.

#### 4.5 Perbandingan Perlakuan Terbaik dan Perlakuan Kontrol

Perlakuan terbaik dari hasil penelitian adalah perlakuan dengan tegangan PEF 3 kV dan waktu PEF 5 menit (T1W2). Disamping itu, perlakuan kontrol (tanpa PEF) yang digunakan dalam penelitian adalah ekstrak tanin biji pinang yang tidak mendapat perlakuan PEF. Parameter yang dibandingkan meliputi rendemen, kadar air, nilai  $\text{IC}_{50}$ , kualitatif tanin, dan kadar tanin yang dapat dilihat pada **Tabel 4.11**. Adapun data perlakuan kontrol kemudian dianalisis menggunakan Uji-T, yang mana hasil pengujian dapat dilihat pada **Lampiran 14**.

Berdasarkan hasil analisis statistik, dapat diketahui bahwa ulangan perlakuan kontrol berpengaruh signifikan (nyata) terhadap variabel kadar air,  $\text{IC}_{50}$ , dan kadar tanin pada selang kepercayaan 95%. Hal tersebut ditunjukkan dengan nilai sig 2-tailed  $< 0,025$ . Disamping itu, ulangan perlakuan kontrol tidak berpengaruh signifikan (nyata) terhadap variabel rendemen. Hal tersebut ditunjukkan dengan nilai sig 2-tailed  $> 0,025$ . Pada variabel  $\text{IC}_{50}$ , nilai sig 2-tailed tidak terdeteksi (nol) dikarenakan nilai standar deviasi sama dengan 0. Hal tersebut menandakan nilai  $\text{IC}_{50}$  bersifat konstan pada setiap ulangan dimana setiap ulangan memiliki nilai yang hampir sama.

**Tabel 4.11** menyajikan perbandingan perlakuan terbaik dengan perlakuan kontrol pada beberapa parameter. Terlihat bahwa perlakuan terbaik memiliki rendemen dan kadar tanin yang lebih besar (6,38%; 571,34 mg GAE/g) dari pada perlakuan kontrol (4,73%; 500,55 mg GAE/g). Hal tersebut mengartikan bahwa perlakuan terbaik memiliki jumlah ekstrak *crude* tanin yang lebih banyak dibanding dengan perlakuan kontrol. Disamping itu, terlihat bahwa perlakuan terbaik memiliki



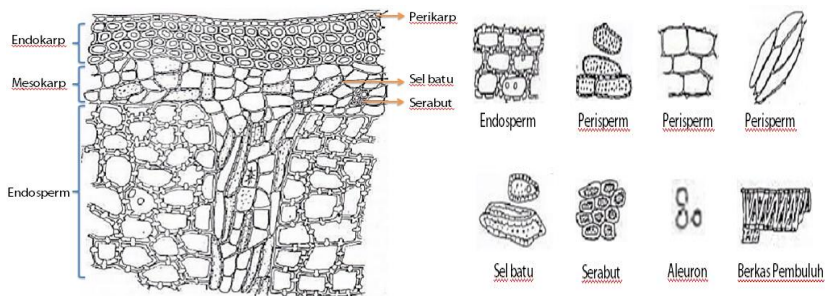
kadar air dan  $IC_{50}$  yang lebih rendah (4,52%; 172,78 ppm) dari pada perlakuan kontrol (12,66%; 183,00 ppm). Hal tersebut mengartikan bahwa perlakuan terbaik memiliki jumlah ekstrak *crude* tanin yang lebih banyak dan aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibanding dengan perlakuan kontrol. Hasil kualitatif tanin positif menunjukan bahwa perlakuan terbaik dan kontrol sama-sama mengandung tanin.

**Tabel 4.11** Perbandingan karakterisasi perlakuan terbaik (T1W2) dengan perlakuan kontrol (tanpa PEF)

Parameter	Perlakuan terbaik (T1W2)	Perlakuan kontrol (tanpa PEF)
Rendemen	6,38%	4,73%
Kadar air	4,52%	12,66%
$IC_{50}$	172,78 ppm	183,00 ppm
Kadar tanin	571,34 mg GAE/g	500,55 mg GAE/g
Kualitatif tanin	+ (hitam)	+ (hitam)

#### 4.6 Perubahan Struktur Sel Biji Pinang Akibat Perlakuan PEF (SEM/Scanning Electron Microscopy)

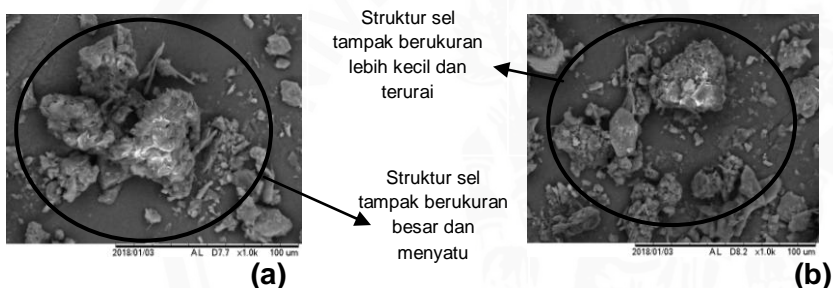
Menurut Mulyani (2006), tanin terdapat dalam sel biasa atau dalam idioblas. Di dalam sel, tanin terletak dalam vakuola atau dalam bentuk tetes di sitoplasma dan sering kali masuk ke dalam dinding sel, misalnya dalam jaringan gabus. Pada pengamatan mikroskopik penampang melintang biji pinang menurut Eka (2017), tampak selapis sel perikarp atau kulit biji, berpigmen. Endokarp terdiri dari beberapa lapis sel, berdinding tebal, tampak seperti sel batu bila terpotong paradormal. Mesokarp terdiri dari jaringan parenkim berdinding tipis dan serabut dengan lumen lebar mesokarp. Endosperm terdiri dari sel-sel berdinding tebal, mempunyai saluran noktah dan berisi butir-butir aleuron. Adapun pemeriksaan mikroskopik tersebut dapat dilihat pada **Gambar 4.7**.



**Gambar 4.7** Mikroskopik biji pinang

Sumber: Eka, 2017

Pengamatan mikroskopik kenampakan struktur sel biji pinang dilakukan menggunakan analisis SEM (*Scanning Electron Microscope*) pada perbesaran 500x dan 1000x. Menurut Jelin *et al.* (2015), SEM merupakan salah satu alat jenis mikroskop elektron yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi bentuk nanopartikel suatu bahan. Hasil analisis SEM perlakuan PEF T1W1 (tegangan PEF 3 kV dan waktu PEF 3 menit) dan kontrol (tanpa PEF) pada perbesaran 500x dan 1000x dapat dilihat pada **Lampiran 15**. Pada perbesaran tersebut dapat terlihat struktur sel sebelum dan sesudah dilakukan perlakuan PEF. Adapun kenampakan struktur sel biji pinang sebelum dan sesudah perlakuan PEF pada perbesaran 1000x dapat dilihat pada **Gambar 4.8**



**Gambar 4.8**, (a) struktur sel sang tanpa perlakuan PEF (kontrol); (b) struktur sel biji pinang yang mendapat perlakuan PEF dengan tegangan PEF 3 kV dan waktu PEF 3 menit (T1W1)

Pada **Gambar 4.8**, terlihat bahwa struktur sel pada serbuk biji pinang kontrol (tanpa PEF) terlihat masih utuh. Disamping itu, struktur sel pada serbuk biji pinang yang mendapat perlakuan PEF dengan tegangan PEF 3 kV dan waktu PEF 3 menit (T1W1) terlihat mulai rusak dan tidak beraturan. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Pataro *et al.* (2011) yang menyebutkan bahwa tegangan listrik yang diterapkan pada sel dapat menyebabkan terjadinya lubang pada dinding sel akibat adanya aliran listrik, sedangkan pada sel yang tidak dialiri listrik tidak ditemui lubang pada dinding selnya.

Menurut Sumitro dkk. (2017), ukuran sel tumbuhan berkisar antara 10  $\mu\text{m}$  – 100  $\mu\text{m}$ . Pada hasil SEM perlakuan tegangan PEF 3 kV dan waktu PEF 3 menit (T1W1) teridentifikasi beberapa ukuran serbuk sel biji pinang sebesar 66,6  $\mu\text{m}$ , 71,3  $\mu\text{m}$  dan 25,4  $\mu\text{m}$ . sedangkan pada perlakuan kontrol (tanpa PEF) teridentifikasi beberapa ukuran serbuk sel biji pinang sebesar 118  $\mu\text{m}$ , 104  $\mu\text{m}$  dan 39  $\mu\text{m}$ . Berdasarkan hal tersebut, dimungkinkan terdapat satu atau beberapa sel didalam serbuk biji pinang dan terlihat bahwa perlakuan tegangan PEF 3 kV dan waktu PEF 3 menit (T1W1) memberikan kerusakan yang lebih pada struktur sel karena ukuran sel yang dihasilkan lebih kecil dibanding dengan perlakuan kontrol. Disamping itu, pada sel serbuk biji pinang kontrol (tanpa PEF) dan sel biji pinang dengan perlakuan tegangan PEF 3 kV dan waktu PEF 3 menit (T1W1) teridentifikasi adanya senyawa C, O, dan K. Pada **Lampiran 15**, diketahui bahwa senyawa *potassium* ( $\text{K}^+$ ) yang terdapat didalam sel pada perlakuan kontrol (tanpa PEF) dan perlakuan tegangan PEF 3 kV dan waktu PEF 3 menit (T1W1) ialah sebesar 0,588 dan 0,383. Terlihat bahwa pemberian perlakuan PEF dengan tegangan PEF 3 kV dan waktu PEF 3 menit (T1W1) tidak hanya merusak dinding sel tanaman, namun juga merusak kanal ion *potassium* ( $\text{K}^+$ ) yang terdapat pada sel sehingga jumlah senyawa *potassium* ( $\text{K}^+$ ) yang terdapat didalam sel lebih sedikit dibanding dengan perlakuan kontrol.

Pada prinsipnya, sel-sel tanaman dilindungi dengan adanya dinding sel. Dinding sel tumbuhan pada umumnya tersusun dari selulosa dan zat-zat lain seperti lignin (Davison *et*

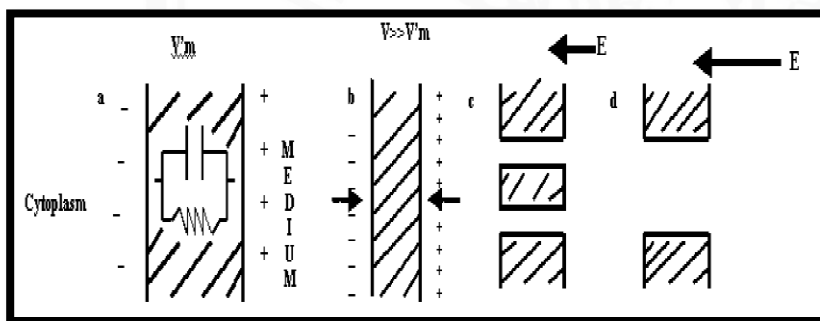
*al.*, 2013). Menurut Wijngaard *et al.* (2012), dinding sel akan mengalami stress dan perubahan pori apabila diberikan medan listrik berpulsa (PEF) tergantung pada kekuatan medan listrik, frekuensi, dan waktu paparan PEF yang diterapkan. Terjadinya perubahan pori pada dinding sel akibat adanya tegangan yang diberikan dikenal dengan istilah pintu tegangan kanal ion (*voltage gate ion channel*). Kanal ion merupakan protein membran pada lapisan lemak membran sel yang tersusun dari beberapa sub-unit protein yang membentuk suatu pori. Sedangkan pintu tegangan kanal ion merupakan kanal ion yang teraktivasi akibat adanya tegangan yang diberikan (Armstrong dan Hille, 1998).

Pada umumnya, pada sel-sel tanaman ditemukan kation-kation seperti  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ , dan  $H^+$  yang berperan penting dalam metabolisme tanaman (Ganning and Steer, 1996). Pada sisi dalam membran sel terdapat ion-ion potasium ( $K^+$ ) dan pada sisi luar membran sel terdapat ion-ion sodium ( $Na^+$ ). Konsentrasi ion  $Na^+$  di sisi luar membran sel 10 kali lebih tinggi dibandingkan pada sisi dalam membran sel. Disamping itu, konsentrasi ion  $K^+$  di sisi dalam membran lebih tinggi sekitar 35 kali dibandingkan pada sisi luar. Hal tersebut mengakibatkan sisi dalam sel lebih bersifat negatif dibandingkan dengan sisi luar sel yang mengindikasikan adanya potensial membran yang disebabkan oleh energi potensial listrik yang dimiliki oleh setiap sel pada umumnya. Kondisi ini dikenal dengan keadaan tidak aktif (istirahat).

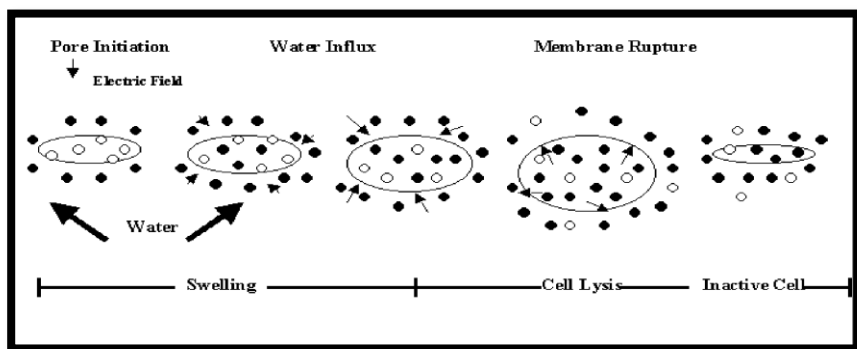
Tegangan yang dihasilkan dari PEF akan merangsang sel dan mengaktivasi ion-ion yang terdapat pada sel, terutama ion  $Na^+$  yang banyak diluar membran sel. Hal tersebut akan meningkatkan permeabilitas membran sel terhadap ion  $Na^+$  sehingga menyebabkan terbukanya kanal ion  $Na^+$ . Pada saat itu, ion natrium yang banyak di luar sel akan masuk ke dalam sel (dari konsentrasi tinggi ke rendah). Hal tersebut akan mengakibatkan berkurangnya perbedaan potensial antara intrasel dengan ekstrasel (menjadi semakin positif) dan membuat intrasel yang semula bersifat negatif akan mengalami depolarisasi, yakni berkurangnya perbedaan polaritas pada membran sel antara daerah intrasel dan ekstrasel. Kemudian,

kanal  $K^+$  yang merasakan adanya perbedaan potensial akan membuka sementara kanal  $Na^+$  menutup. Kanal  $K^+$  akan membuat ion kalium di dalam sel keluar dari sel dan menyebabkan potensial membrane yang tadinya menjadi positif kembali menjadi negatif seperti saat kondisi istirahat. Setelah itu, kanal ion kalium akan kembali menutup secara lambat. Hal ini disebut dengan repolarisasi. Setelah tahap repolarisasi, dikenal suatu kondisi yang disebut positive after potential. Keadaan ini merupakan kondisi potensial membran yang lebih negatif dari kondisi istirahat. Hal ini terjadi akibat lambatnya penutupan kanal ion  $K^+$ . Peristiwa ini dinamakan hiperpolarisasi atau peningkatan polarisasi yang berlebih pada membran sel (Armstrong and Hille, 1998).

Menurut Schow *et. al.* (2012), semakin tinggi tegangan dan semakin lama waktu akan membuat pergerakan ion semakin aktif sehingga dapat membentuk pori-pori yang semakin lebar pada dinding sel. Pori-pori tersebut akan meningkatkan permeabilitas membran sel. Permeabilitas membran terus meningkat akibat pengaruh medan listrik yang terus diberikan. Hal ini menyebabkan pori-pori pada membran akan bersifat irreversible (Vorobiev and Lebovka, 2008). Hal tersebut akan menyebabkan pelarut lebih mudah menjangkau bagian dalam jaringan termasuk vakuola sebagai tempat penyimpanan tanin sehingga tanin yang didapatkan lebih banyak dan berkualitas. Adapun skema pengaruh PEF terhadap sel seperti pada **Gambar 4.9**.



(a)



(b)

**Gambar 4.9** Skema pengaruh PEF terhadap sel bahan, (a) Pengaruh PEF merusak membrane sel (Sumber: Spreer, 1998); (b) Elektroporasi membrane sel (Sumber: Spreer, 1998).





## BAB V. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan diperoleh beberapa kesimpulan sebagai berikut:

1. Variabel tegangan PEF (T) dan waktu PEF (W) baik masing-masing maupun secara bersama-sama menunjukkan tidak ada pengaruh yang nyata atau signifikan terhadap rendemen kadar air,  $IC_{50}$ , dan kadar tanin. Terkecuali, hanya variabel waktu PEF (W) yang memberikan pengaruh yang nyata atau signifikan terhadap nilai  $IC_{50}$ .
2. Energi masukan spesifik PEF yang dihasilkan berkisar antara 1,92 – 12,44 kJ/cm<sup>3</sup>. Perlakuan PEF yang dicobakan menunjukkan bahwa semakin besar tegangan dan semakin lama waktu paparan PEF yang diterapkan, maka energi yang dihasilkan akan semakin besar.
3. Besar energi masukan spesifik PEF diketahui tidak berpengaruh nyata terhadap rendemen, kadar air,  $IC_{50}$ , dan kadar tanin.
4. Perlakuan terbaik berdasarkan metode Zeleny adalah perlakuan T1W2 (tegangan 3kV dan waktu 5 menit) dengan besar energi masukan spesifik 3,20 kJ/cm<sup>3</sup>, rendemen 6,38%, kadar air 4,52%,  $IC_{50}$  172,78 ppm, dan kadar tanin 571,34 mg GAE/g. Komponen gugus fungsi penyusun pada perlakuan terbaik hampir sama dengan komponen gugus fungsi standar pada tanin terkondensasi. Perlakuan terbaik tersebut diketahui lebih baik dari pada perlakuan kontrol non PEF pada semua karakterisasi (rendemen, kadar air,  $IC_{50}$ , dan kadar tanin). Dibanding kontrol, perlakuan terbaik memberikan peningkatan pada rendemen dan kadar tanin sebesar 34,88% dan 14,14% serta memberikan penurunan pada kadar air dan nilai  $IC_{50}$  sebesar 64,30% dan 5,58%.

### 5.2 Saran

Pada penelitian ini diketahui variasi perlakuan PEF yang dicobakan masih belum terlalu berpengaruh terhadap hasil, untuk itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap faktor



selain PEF yang mempengaruhi hasil seperti faktor pengecilan ukuran, ekstraksi, dan pemanasan/pengeringan. Disamping itu, perlu dilakukan kalibrasi antara rendemen dengan kadar air. Lalu, untuk aktivitas antioksidan diperlukan adanya kurva standar (quercetin atau vitamin C) yang berfungsi sebagai nilai ekuivalen  $IC_{50}$ . Kemudian, perlu dilakukan perhitungan rendemen tanin murni yang terdapat dalam biji pinang. Terakhir, perlu dilakukan pembahasan analisis finansial agar dapat diketahui efisiensi dari proses serta pemanfaatan limbah ekstrak biji pinang untuk menambah nilai ekonomis dari biji pinang yang diolah.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alberts, B. 1994. ***Molecular Biology of the Cell***. Garland Publishing. New York.
- Al-Mosawe, E.H., dan Al-Saadi II. 2012. ***The Extraction and Purification of Gallic Acid From The Pomegranate Rind***. Al-Mustansiriyah J Sci. 23(6): 53-60.
- Amelia, F.R. 2015. **Penentuan Jenis Tanin dan Penetapan Kadar Tanin dari Buah Bungur Muda (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) secara Spektrofotometri dan Permanganometri**. Jurnal ilmiah mahasiswa universitas Surabaya. 4(1): 1-20.
- Arisman. 2009. **Keracunan Makanan: Buku Ajar Ilmu Gizi**. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Armstrong, C.M., and B. Hille. 1998. ***Voltage gate Channel and Electrical Exitability***. Neuron. 20: 3710380.
- Association of Official Analytical Chemist (AOAC) 925.45. 1999. ***Official Methods of Analysis of Assocoation of Official Analytical Chemists***. 15<sup>th</sup> Edition. Kenneth Helrich, USA. Chapter 44.1.03.
- Astawan, M. 2008. **Khasiat Warna-Warni Makanan**. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Azwanida, N.N. 2015. ***A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation***. Med Aromat Plants. 4(3): 1-6.
- Badan Pusat Statistik. 2017. **Produksi Perkebunan Rakyat Menurut Jenis Tanaman (ribu ton), Tahun 2000 - 2015**. Diakses tanggal 25 Agustus 2017. <<https://www.bps.go.id/linkTabelStatis/view/id/1670>>.
- Balai Penelitian Tanaman Palma. 2012. **Prospek Pengembangan Tanaman Pinang**. Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Vol 34(1).
- Behrman, K., and Arvin, N. 1996. **Ilmu Kesehatan Anak**. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Berk, Z. 2009. ***Food Process Engineering and Technology***. Elsevier Inc. New York.

- Bhattacharya, S. 2015. **Conventional and Advanced Food Processing Technology**. John Wiley & Sons. Oxford. UK.
- Christina, E.P., dan Florentina, P. 2017. **Ekstraksi Tanin Dari Kulit Kayu Pinus Dengan Bantuan Microwave: Pengaruh Daya Microwave, Jenis Pelarut dan Waktu Ekstraksi**. Jurnal Integrasi Proses. 6(4): 155-161.
- Dalimartha, S. 2009. **Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 1**. Trubus Agriwidya. Jakarta.
- Davison, B.H., J. Parks., M.F. Davis., and B.S. Donohoe. 2013. **Plant Cell Walls**. John Wiley and Sons. UK.
- Dennis, O., W.J.M. Smith., J.D. Brooker, and M.C. ScWeeney. 2005. **Tolerance Mechanisms of Streptococci to Hydrolysable and Condensed Tannins**. Anim Feed Sci. Tech. 121: 59-75.
- Depkes RI. 1989. **Materia Medika Indonesia Jilid V**. pp. 55-58.
- Desmiaty, Y., Ratih, H., Dewi, M.A., dan Agustin, R. 2008. **Penentuan Jumlah Tanin Total pada Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia Lamk*) dan Daun Sambang Darah (*Exchoecaria bicolor Hassk.*) secara Kolorimetri dengan Pereaksi Biru Prusia**. Ortocarpus. Jurnal Tanin Handbook. 8:106-109.
- Donsi, F., G. Ferrari, and G. Pataro. 2010. **Application of Pulsed Electric Field Treatments for the Enhancement of Mass Transfer from Vegetable Tissue**. Journal Food Eng. Rev 2: 109-130.
- Eka, S. 2017. **Panduan Praktikum Botani Farmasi: Modul Biji Buah**. Universitas Padjajaran. Bandung.
- Ersus, S., and D.M. Barrett. 2010. **Determination of Membrane Integrity in Onion Tissue Treated by Pulsed Electric Field: Use of Microscopic Image and Ion Leakage Measurements**. Journal of Innovative Food Science and Emerging Technology. 11: 985-603.
- Estiasih, T. dan Ahmadi, K. 2009. **Teknologi pengolahan pangan**. Bumi aksara. Jakarta.
- Ferry, Y. 1992. **Bertanam pinang (*Areca cathecu L.*)**. Kebun percobaan Paya Gajah. Aceh Timur.
- Filho, V.C. 2012. **Plant Bioactives and Drug Discovery**. John Wiley & Sons Inc. New Jersey.

- Fu'aida, N., Arie, F.M., dan Susinggih, W. 2016. **Aplikasi Pulsed Electric Field (PEF) Sebagai Pretreatment pada Ekstraksi Biji Pinang (*Areca catechu* L.) Sebagai Sumber Antioksidan Alami (Kajian Besar Tegangan dan Lama Waktu PEF)**. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya.
- Gachovska, T., D. Cassada., J. Subbiah., M. Hanna., H. Thippareddi., and D.Snow. 2010. **Enhanced Antocyanin Extraction from Red Cabbage using Pulsed Electric Field Processing**. Journal of Food Science. 75(6). 323-329.
- Ganning, B.E.S., and M.W. Steer. 1997. **Plant Cell Biology Structure and Function**. Jones and Bartlett Publishers. London.
- Gould, G. W. 1995. **New Methodes Foods Preservatif**. Chapman Hall. New York.
- Hamsar, M.N., Ismail, S., Mordi, M.N., Ramanathan, S., and Mansor, S.M. 2011. **Antioxidant Activity and the Effect of Different Parts of *Areca catechu* Extraction glutathione-S-transferase Activity in Vitro**. Free Radic. Antioxid. 1 (1): 28-33.
- Hannan, A., S. Karan, and T.K. Chatterjee. 2012. **A Comparative Study Of In-Vitro Antioxidant Activity Of Different Extracts Of Areca Seed Collected From *Areca Catechu* Plant Grown In Assam**. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 4(2): 420-427.
- Harborne, J.B. 1987. **Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan**. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Hatano T., H. Kagawa, Yasuhara, and T. Okuda. 1998. **Two New Flavonoids and Other Constituents in Licirice Root: Their Relative Astringency and Radical Scavenging Effects**. Chem Pharm Bull. 36: 2090-7.
- Ismarani. 2012. **Potensi Senyawa Tannin dalam Menunjang Produksi Rumah Lingkungan**. Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah. 3(2): 46-55.

- Izza, N., Shinta, R.D., Angky, W.P., Dian R.Y., and Maria, Y.S.D. 2016. **Extraction of Phenolic Compounds from Cosmos caudatus Using Pulsed Electric Field (PEF).** Jurnal Teknologi Pertanian. 17 (2): 91-96.
- Jaiswal, P., P. Kumar, V.K. Singh, and D.K. Singh. 2011. **Areca catechu L.: A Valuable Herbal Medicine Against Different Health Problems.** Research Journal of Medicinal Plants. 5(2): 145-152.
- Janositz, A. and Knorr, D. 2010. **Microscopic Visualization of Pulsed Electric Field Induced Changes on Plant Cellular Level.** Innovative Food Science and Emerging Technologies. 11: 592-597.
- Jayalakshmi, A., and Mathew, A. G. 1982. **Chemical Composition And Processing.** In: Bavappa, K. V. A., Nair, M. K. and Kumar, T.P., eds, **The Arecanut Palm Kerala, Central Plantation Crops.** Research Institute. pp. 225-244.
- Jelin, F. J., Kumar, S. S., Malini, M., Vanaja, M., dan Annadurai, G. 2015. **Environment-Assisted Green Approach Agnps by Nutmeg (Myristica Fragrans): Inhibition Potential Accustomed to Pharmaceuticals.** EJBS. Vol 2 (4): 258-274.
- Jun, M., H.Y. Fuu., J. Hong., X. Wan., C.S. Yang., and C.T. Cho. 2003. **Comparison of Antioxidant Activities of Isoflavones from Kudzu Root (Pueraria lobata Ohwi).** Journal of Food Science. 68(6): 2117-2122.
- Kikuzaki, H., Hisamoto, M., Hirose, K., Akiyama, K., and Tanguchi, H. 2002. **Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Related Compound.** J. Agric.Food Chem. 50: 2161-2168.
- Knorr, D., M. Geulen., T. Gahl., and W. Sitzmann. 1994. **Food Application of High Electric Field Pulses.** Trends in Food Science Technology 5. 71-75.
- Kondo, M., K. Kita, and H. Yokota. 2004. **Feeding Value to Goats of Whole Crop Oat Ensiled with Green Tea Waste.** Anim. Feed. Sci. Tech. 113: 71-81.

- Kusuma, T.W.N, dan Debrina, P.A. 2016. **Aplikasi Komputer dan Pengolahan Data: Pengantar Statistik Industri**. UB Press. Malang.
- Lutony, T.L. 1992. **Pinang (Ekspor dan Serbaguna)**. Kanisius. Yogyakarta.
- Maslukhah, Y.L., Tri, D.Y., Elok, W., Novita, W., dan Feronika, H.S. 2016. **Faktor Pengaruh Ekstraksi Cincau Hitam (*Mesona Palustris* Bl) Skala Pilot Plant**. Jurnal Pangan dan Agroindustri. 4(1): 245-252.
- Moeksin, R., dan Stevanus, R.H. 2009. **Pengaruh Kondisi, Perlakuan dan Berat Sampel Terhadap Ekstraksi Antosianin dari Kelopak Bunga Rosela dengan Pelarut Aquadest dan Etanol**. Jurnal Teknik Kimia. 4(16)
- Molyneux, P. 2004. ***The Use of The Stable Free Radical diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity***. Journal Science of Technology. 26(2): 211-219.
- Mukhriani. 2014. **Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif**. Jurnal Kesehatan. 8(2): 361-367.
- Mulyani, S. 2006. **Anatomi Tumbuhan**. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Nair, K.P.P. 2010. ***The Agronomy and Economy of Important Tree Crops of the Developing World***. Elsevier Inc. London.
- Nasution, P.A., Ridwanti, B., dan Surjanto. 2015. **Tingkat Kekuatan Antioksidan dan Kesukaan Masyarakat terhadap Teh Daun Gaharu Berdasarkan Pohon Induksi dan Non-Induksi**. Peronema Forestry Science Journal. 4(1): 1-12.
- Nieto, M.M.G., P.D. Pedrow, B.G. Swanson, and G.V. Barbosa. 2003. ***Energy Analyses of Liquid Whole Egg Pasteurized by Pulsed Electric Fields***. Journal of Food Engineering. 57: 209-216.
- Nnaji, N.J.N., C.O.B. Okoye., N.O., Obi-Egbedi., M.A. Ezeokonkwo., and J.A. Ani. 2013. ***Spectroscopic Characterization of Red Onion Skin Tannin and It's use as Alternative Aluminium Corrosion Inhibitor in***



- Hydrochloric Acid Solutions.** Int.. J. Electrochem. Sci. 8: 1735 – 1758.
- Noerdin, D. 1986. **Elusidasi Struktur Senyawa Organik dengan Cara Spektroskopi Ultralembayung dan Inframerah.** Angkasa. Bandung.
- Pataro, G., Ferrari G., dan Donsi, F. 2011 **Mass Transfer Enhancement by Means of Electroporation, Mass Transfer in Chemical Engineering Processes.** Intechopen Europe. Kroasia
- Peng, W., Liu, Y.J., Wu, N., Sun, T., He, X.Y., Gao, Y.X., and Wu, C.J. 2015. **Areca catechu L. (Arecaceae): A Review of its Traditional Uses, Botany, Phytochemistry, Pharmacology, and Toxicology.** J. Ethnopharmacol. 164: 340-356.
- Prakash, A. 2001. **Antioxidant Activity.** Medallion Laboratories-Analytical Progress. 19(2): 1-4.
- Purwaningsih, E. 2007. **Cara Pembuatan Tahu dan Manfaat Tempe Kedelai.** Ganeca exact. Bekasi.
- Putri, R.I., Ika, N.S., La, C.H., Diah, M. 2009. **Aplikasi Mikrokontroler Pada Pembangkit Pulsa Tegangan Tinggi dengan Pengaturan Waktu Pengolahan untuk Pasteurisasi Sari Buah Apel.** Jurnal INKOM. 3(1-2) :31-41.
- Rahmah, N.L., Sukardi., Beauty, S.D.D., and Hanun, A.W. **Effect of Frequency and Duration of Pulsed Electric Field Pre-Treatment on Antioxidant Compounds Extraction of Dry Areca Nut (Areca catechu).** Journal Biotika. 5(8): 69-75.
- Ramos-Tejada, M.M, Dura'n, J.D.G., Ontiveros-Ortega, A., Espinosa-Jimenez, M., Perea-Carpio, R., and Chibowski, E. 2002. **Investigation Of Alumina(+)-Catechin System Properties Part I: A Study of The System By FTIR-UV-Vis Spectroscopy.** Biointerfaces. 24(2002): 297–308.
- Rashid, M., S. Shamsi, R. Zaman, and A. Ilahi. 2015. **Areca catechu: Enfolding of Historical and Therapeutic Traditional Knowledge with Modern Update.** International Journal of Pharmacognosy. 2(5): 221-228.



- Ribierio, W.M., Noci, D.A., and Cronin. 2008. ***Reduction of Staphylococcus aureus and Quality Change in Apple Juice Processed By Ultraviolet Irradiation, Pre-heating and Pulsed Electric Field.*** Journal of Food Engineering. 89: 267-273.
- Rohman, A., Riyanto, S., Yuniarti, N., Saputra W.R., Utami R., dan Mulatsih, W. 2010. ***Antioxidant Activity, Total Phenolic and Total Flavonoid of Extracts and Fractions of Red Fruit (Padanus conoideus Lam).*** International Food Research Journal. 17: 97-106.
- Sa'roni dan Adjirni. 2005. ***Spesifikasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Biji Pinang (Areca catechu L.) Asal Tawangmangu serta Toksisitas Akut dan Khasiat Hemostatiknya Pada Hewan Coba.*** Media Litbang Kesehatan Volume XV Nomor I. Puslitbang Farmasi dan Obat Tradisional, Balitbangkes. Depkes Jakarta.
- Sangi, M., Runtuwene, M.R.J., Simbala, H.E.I., dan Makang, V.M.A. 2008. ***Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara.*** Chemistry Progress. 1: 47-53.
- Sastrohamidjojo, H. 1991. ***Kromatografi.*** Liberty Yogyakarta. Yogyakarta.
- Savitri, A. 2016. ***Basmi Penyakit dengan Tanaman Obat Keluarga.*** Bibit Publisher. Depok.
- Schow, E.V., J.A. Freitas., A. Nizkorodov., S.H. White., and D.J. Tobias. 2012. ***Coupling Between The Voltage sensing and Pore Domains in a Voltage Gate Potassium Channel.*** Biochimica et Biophysica Acta. 1818: 1726-1736.
- Senja, R.Y., Elisa, I., Akhmad, K.N., and Erna, P.S. 2014. ***The Comparison of Extraction Method and Solvent Variation on Yield and Antioxidant Activity of Brassica oleracea L. var. capitata f. rubra Extract.*** Traditional Medicine Journal. 19(1): 43-48.
- Siemar, C., Toepfl, S., dan Heinz, V. 2012. ***Mass Transport Improvement by PEF – Applications in the Area of Extraction and Distillation, Distillation – Advance from***

- Modelling to Applications.** Dr. Sina Zereszki. Intech Europe. Kroasia.
- Spreer. 1998. **Milk and Product Technology.** Marcel Dekker. New York.
- Srisuhartatik. 2012. **Analisa Kebutuhan Energi Proses Pasteurisasi Sari Buah Jeruk Pontianak (*Citrus nobilis*) Menggunakan Pulsed Electric Field Sistem Batch.** Skripsi. Universitas Brawijaya Malang.
- Sukardi. 2016. **Elektroporasi Membran Sel untuk Meningkatkan Efisiensi Distilasi Minyak Nilam (*Pogostemon cablin*, Benth).** Disertasi. Fakultas Teknik. Universitas Brawijaya.
- \_\_\_\_\_, Mahendra N.N., Arie, F.M., Sucipto. 2016. **Efek Pulse Electric Field (PEF) pada Rendemen dan Kualitas Minyak Bunga Melati (*Jasminum sambac*) (Kajian Rasio Bahan dan Pelarut).** Indonesian Journal of Essential Oil. 1(1): 30-44.
- \_\_\_\_\_, Fakta, M.P., Maimunah, H.P., Arie, F.M. 2014. **Proses Ekstraksi Minyak Atsiri Bunga Mawar dengan Perlakuan Pendahuluan PEF (*Pulsed Electric Field*) Menggunakan Metode Pelarut Menguap (Kajian Frekuensi PEF dan Waktu Ekstraksi).** Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya.
- \_\_\_\_\_, Axnessya, R., Maimunah, H.P., Arie, F.M. 2014. **Penerapan PEF (*Pulsed Electric Field*) pada Ekstraksi Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix D.C*) dengan Metode Destilasi Air dan Uap (Kajian Jenis Perlakuan Pendahuluan Bahan dan Lama Waktu *Pulsed Electric Field*).** Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya.
- Sulastris T. 2009. **Analisis Kadar Tanin Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol pada Biji Pinang Sirih (*Areca catechu*. L).** Jurnal Chemica. 10: 59-63
- Sumitro, S.B., Sri, W., dan Sofy, P. 2017. **Biologi Sel.** UB Press. Malang.
- Susanti, A.E., dan Agung, P. 2014. **Potensi Pinang (*Areca catechu*) sebagai *Antelmintik* untuk Ternak.** Prosiding Seminar Nasional Pertanian Ramah Lingkungan

- Mendukung Bioindustri di Lahan Sub Optimal Palembang. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sumatera Selatan. Palembang. pp. 405
- Sushant, S., and Kamath, A. 2013. ***Methods of Size Reduction and Factors Affecting Size Reduction in Pharmaceuticals***. International Research Journal of Pharmacy. 4(8): 57-65.
- Syamsuhidayat, S.S., dan Hutapea, J.R. 1991. ***Inventaris Tanaman Obat Indonesia***. Balitbang Departemen Kesehatan. 1: 64-65.
- Syarief, R.S. 2015. ***Penghambatan Korosi Tembaga Menggunakan Ekstrak Tanin dari Gambir Asalan, Biji Pinang, dan Kulit Manggis***. Tesis. Institut Pertanian Bogor.
- Tambe, V.D., and Rajendra, S.B. 2014. ***Estimation of Total Phenol, Tannin, Alkaloid, and Flavonoid in Hibiscus Tiliaceus L. Wood Extracts***. Research and Reveiws: Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 2(4): 41-47.
- Tim Penyusun Kamus PS. 2013. ***Kamus Pertanian Umum***. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Toepfl, S. 2006. ***Pulsed Electric Fields (PEF) for Permeabilization of Cell Membranes in Food and Bioprocessing – Applications, Process and Equipment Design and Cost Analysis***. Disertasi. Universitas Berlin.
- Toepfl, S., V. Heinz, and D. Knorr. 2006. ***Application of Pulsed Electric Field Technology for the Food Industry; in: Pulsed Electric Field Technology for the Food Industry***. Editors: J. Raso and V. Heinz. Springer. UK. p. 197-221.
- Trease, D.E., and Evans, W.C. 2002. ***Pharmacognosy, 15<sup>th</sup> edition***. Saunders publisher. London.
- Turk, M.F., Vorobief, E., and Baron, A. 2012. ***Improving Apple Juice Expression and Quality by Pulsed Electric Field on an Industrial Scale***. International Journal of Food Science and Technology. 49(2012):245-250.

- Verobiev, E., and N. Lebovska. 2008. ***Pulsed Electric Fields Induced Effects in Plant Tissues***. Electrotechnologies from Food Plants and Biomaterials. 157: 39-81.
- Wicaksono., Gilang, S., dan Elok, Z. 2014. **Pengaruh Karagenan dan Lama Perebusan daun Sirsak terhadap Mutu dan Karakteristik Jelly Drink Daun Sirsak**. Jurnal Pangan dan Agroindustri. 3(1): 281-291.
- Wijngaard, H., M.B. Hossain., D.K. Rai., and N. Brunton. 2012. ***Techniques to Extract Bioactive Compounds from Food By-Products of Plant Origin***. Food Research International (46). 505-513.
- Winarsi, H. 2007. **Antioksidan Alami dan Radikal Bebas**. Kanisius. Yogyakarta.
- Yellia, M. 2009. **Solusi Sehat Mencegah dan Mengatasi Kanker**. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Yenrina, R., N. Nazir, and A.S. Lubis. 2014. ***Unripe Areca (Areca catechu. L) Nut Syrup as a Functional Drinks with Addition of Powdered Cassia Vera Extract***. Asia Pacific Journal of Sustainable Agriculture Food and Energy. 2(1): 17-22.
- Yongsun, R. 2005. **Antioksidan: Manfaat Vitamin C & E bagi Kesehatan**. Penerbit Arcan. Jakarta.
- Yuliani, S., dan Suyanti, S. 2012. **Panduan Lengkap Minyak Asiri**. Penebar Swadaya. Depok.
- Yuliarti, N. 2009. **A to Z Food Supplement**. Penerbit Andi. Yogyakarta.
- Yuwono, S. S. dan T. Susanto. 1998. **Pengujian Fisik Pangan**. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya.
- Zeleny, M. 1982. ***Multiple Criteria Decision Making***. Mc Graw-Hill. New York.
- Zhang, H.Q., G.V. Barbosa-Canovas., and B.G. Swanson. 1995. ***Engineering Aspects of Pulsed Electric field Pasteurization***. Journal of Food Engineering. 25: 261-281.
- Zhang, H.Q., G.V. Barbosa-Canovas., V.M. Balasubramaniam., C.P. Dunne., D.F. Farkas., and J.T.C. Yuan. 2011.

***Nonthermal Processing Technologies for Food.***  
Blackwell Publishing. UK.

Zhang, W.M., Bin, L., Lin, H., and Hai-de, Z. 2009. ***Antioxidant Activities of Extracts from Areca (Areca catechu L.) Flower, Husk, and Seed.*** African Journal of Biotechnology. 8(16): 3887-3892.

